实用

口腔微生物学图谱

Applied Atlas of Oral Microbiology

主　编　肖丽英　肖晓蓉
主　审　周学东



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

VISIT…

LANZAROTE Caliente.com

实用

口腔微生物学图谱

Applied Atlas of Oral Microbiology



策划编辑 刘红霞 责任编辑 刘红霞 成丽丽 封面设计 赵京津 版式设计 盖 伟 责任校对 陈 倩

ISBN 978-7-117-12308-2

定 价：96.00 元

销售分类 口腔

人民卫生出版社网站：

门户网：www.pmph.com 出版物查询、网上书店 卫人网：www.ipmph.com 护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

微信公众号

口腔视频

微信搜索qzkqsp1即可关注

福利1

关注后可观看正畸、修复、种植等精彩内容

福利2

关注后领取口腔解剖病理学视频讲座全集

福利3

加入视频分享交流群，解答疑难病例，获取更多视频资源

扫二维码，关注公众号
领取更多口腔资料

实用
口腔微生物学图谱
Applied Atlas of Oral Microbiology

主　编　肖丽英　肖晓蓉
主　审　周学东
编　委（以姓氏笔画为序）
朱　硃　李　伟　李　燕　肖丽英
肖晓蓉　陆峻君　张朝良　周学东
郝玉庆　龚其美　廖　生

人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图书在版编目(CIP)数据

实用口腔微生物学图谱/肖丽英等主编. —北京：人民卫生出版社，2009.12

ISBN 978-7-117-12308-2

Ⅰ. 实… Ⅱ. 肖… Ⅲ. 口腔科学：微生物学－图谱 Ⅳ. R780.2-64

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 192810 号

门户网：www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网：www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

实用口腔微生物学图谱

主　　编：肖丽英　肖晓蓉
出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-67616688）
地　　址：北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼
邮　　编：100078
E - mail：pmph @ pmph.com
购书热线：010-67605754　010-65264830
印　　刷：北京铭成印刷有限公司
经　　销：新华书店
开　　本：787×1092　1/16　　印张：12.75
字　　数：323 千字
版　　次：2009 年 12 月第 1 版　　2009 年 12 月第 1 版第 1 次印刷
标准书号：ISBN 978-7-117-12308-2/R・12309
定　　价：96.00 元

版权所有，侵权必究，打击盗版举报电话：010-87613394

（凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

序

在多姿多彩的微生物世界中，口腔以独特的生态环境成为微生物生长繁殖的天然培养基，与人类健康和疾病密切相关，愈来愈受到广泛关注。口腔微生物学是一门基础知识和实验技术结合紧密的学科，数量多、种类复杂的口腔微生物菌落在形态学上的特点和变化，给口腔微生物的认识和鉴定带来了一定的困难。口腔疾病研究国家重点实验室肖丽英教授、肖晓蓉教授和其他编写者长期从事口腔微生物学的教学和研究，经过多年的经验积累和资料收集，精选出多幅具有代表性的图片，编辑成口腔微生物彩色图谱。图谱收集了大量的口腔微生物图片，包括染色图片、微生物菌落的平板和体视显微镜照片、微生物细胞的扫描电镜和透射电镜照片，并配有简明的文字叙述和直观而生动的示意图，向读者介绍了口腔微生物基础知识和形态学特点，以及分离鉴定等实验技术。有关生态学技术，如活菌计数的菌落形成单位（CFU）测定的螺旋接种技术和生物膜检测的激光共聚焦显微镜技术等内容，更具有广泛的实用性和先进性。

《实用口腔微生物学图谱》的编写出版，不仅为口腔医学、临床医学和医学微生物学等有关专业人员提供参考，有助于提高口腔微生物学及相关学科的教学和研究水平，加强国际间的学术交流，让更多的人了解口腔微生物，为人人享有口腔卫生健康而努力。

四川大学华西口腔医学院

周学东　教授

2009 年 10 月

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

前　言

20世纪80年代以来，由于分子生物学实验技术及悉生生物学等现代化生物学技术的深入发展和进步，与人类健康和疾病密切相关的口腔微生物学迅速发展，并伴随着微生物新种属的不断发现和种属位置的变动受到广泛的关注。口腔微生物不仅种类复杂，而且在形态学上的特点与变化也给相关的鉴定带来了困难。长期以来，编写一本图文并茂的口腔微生物图谱是口腔微生物学研究者和临床医师的期望。由口腔疾病研究国家重点实验室肖丽英教授和肖晓蓉教授主编的《实用口腔微生物学图谱》，收集了大量的口腔微生物图片，包括染色图片、微生物菌落的体视显微镜照片和微生物细胞的扫描电镜和透射电镜照片，配以简明的文字叙述以馈读者。

让更多的人了解口腔微生物，提高口腔微生物学的教学和研究水平，加强国际交流是作者编写此书的目的。

《实用口腔微生物学图谱》的特点：①主编及其编写者长期从事口腔微生物的教学和研究，经过多年的经验积累和资料收集，精选出多幅具有代表性的照片，并配以简明的文字叙述，是国内外第一本口腔微生物形态及超微结构的彩色图谱。②共有图片及示意图700多幅，图片清晰、示意图生动、图文并茂。③内容丰富、系统、完整、新颖，其中有关于生态学技术的内容，如活菌计数的菌落形成单位（CFU）测定的螺旋接种仪技术和生物膜检测的激光共聚焦显微镜技术，不仅内容新颖而且具有广泛的实用性。④是一本有广大读者群和可作国际学术交流之用的，不可多得的口腔微生物学书籍。读者包括口腔医学、临床医学及医学微生物学的师生及科研工作者，以及热爱微生物的科技爱好者。

本书在编写过程中得到了多方面的支持和帮助，周学东教授担任主审，在本书编写中给予了大力的支持和帮助；李伟教授对本书的编写提出了许多宝贵的意见；四川大学基础与法

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

医学院医学微生物学教研室邝玉实验师提供了部分照片，华西口腔医学院吕川博士绘制了部分模式图，对此均表示诚挚的谢意。虽然我们竭尽全力，但在编排和内容上肯定还存在不足之处，希望读者给予指正。

口腔疾病研究国家重点实验室

编　者

2009 年 10 月

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

目 录

第一章 微生物细胞学基础 1
第一节 微生物的大小与形态 3
一、微生物的大小 3
二、微生物的形态 3
（一）细菌 3
（二）真菌 3
（三）病毒 5
第二节 微生物的结构 5
一、细菌的基本结构 5
（一）细胞壁 6
（二）细胞壁缺陷型 8
（三）细胞膜 9
（四）细胞质 9
（五）核质 9
二、细菌的特殊结构 9
（一）荚膜 9
（二）鞭毛 10
（三）菌毛 11
（四）芽胞 12
三、病毒的基本结构 13
（一）病毒核心 13
（二）病毒衣壳 13
（三）包膜 13

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

第三节　微生物生理及遗传……13
一、细菌的生长与繁殖……13
（一）二分裂繁殖……13
（二）细菌的生长……15
二、微生物细胞的遗传和变异……15
（一）遗传……15
（二）变异……15
（三）细菌的遗传物质……16
（四）微生物变异的机制……18
（五）基因的转移与重组……19

第二章　微生物种群……22
第一节　革兰阳性球菌……22
一、葡萄球菌属……22
（一）金黄色葡萄球菌……23
（二）表皮葡萄球菌……25
二、链球菌属……26
（一）唾液链球菌……26
（二）血链球菌……28
（三）格氏链球菌……31
（四）变异链球菌……33
（五）表兄链球菌……37
（六）缓症链球菌……38
（七）口腔链球菌……40
（八）酿脓链球菌……41
（九）肺炎链球菌……43
（十）前庭链球菌……46
三、肠球菌属……51
粪肠球菌……51
四、消化链球菌属……52
厌氧消化链球菌……53
第二节　革兰阴性球菌……54
一、奈瑟菌属……54
脑膜炎奈瑟菌……55
二、莫拉菌属……56
黏膜炎莫拉菌……56
三、韦荣菌属……58
小韦荣菌……58
第三节　革兰阳性兼性厌氧杆菌……60
一、罗斯菌属……60

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

龋齿罗斯菌 ……60
二、放线菌属……62
（一）衣氏放线菌 ……63
（二）内氏放线菌 ……65
（三）龋齿放线菌 ……67
（四）粘性放线菌 ……69
三、丙酸杆菌属……71
痤疮丙酸杆菌 ……71
四、真杆菌属……74
迟缓真杆菌 ……74
五、双歧杆菌属……76
（一）齿双歧杆菌 ……76
（二）短双歧杆菌 ……77
六、乳杆菌属……79
（一）嗜酸乳杆菌 ……80
（二）干酪乳杆菌 ……82
（三）发酵乳杆菌 ……84
第四节　革兰阴性杆菌……86
一、埃希菌属……86
大肠埃希菌 ……86
二、嗜血菌属……88
（一）流感嗜血菌 ……88
（二）伴放线菌嗜血菌 ……91
三、艾肯菌属……93
啮蚀艾肯菌 ……93
四、二氧化碳噬纤维菌属……96
（一）牙龈二氧化碳噬纤维菌 ……96
（二）生痰二氧化碳噬纤维菌 ……96
五、拟杆菌属……101
（一）脆弱拟杆菌 ……101
（二）多形拟杆菌 ……103
六、梭杆菌属……106
（一）具核梭杆菌 ……106
（二）坏死梭杆菌 ……108
（三）可变梭杆菌 ……112
七、普雷沃菌属……115
（一）中间普雷沃菌 ……115
（二）变黑普雷沃菌 ……117
（三）产黑色素普雷沃菌 ……119
（四）人体普雷沃菌 ……121

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（五）洛氏普雷沃菌 …… 123
八、卟啉单胞菌属 …… 125
（一）牙龈卟啉单胞菌 …… 125
（二）牙髓卟啉单胞菌 …… 127
第五节 螺旋体 …… 129
密螺旋体属 …… 129
第六节 其他口腔微生物 …… 131
一、真菌 …… 131
白假丝酵母菌 …… 131
二、支原体 …… 138
三、病毒 …… 140
单纯疱疹病毒 …… 140

第三章 实验技术 …… 142
第一节 涂片染色技术 …… 142
一、Kopeloff 改良革兰染色法 …… 143
（一）原理 …… 143
（二）染色液的配制 …… 143
（三）染色方法 …… 143
（四）结果观察 …… 144
（五）注意事项 …… 144
二、特殊染色法 …… 145
（一）细菌芽胞染色法 …… 145
（二）细菌荚膜染色法 …… 146
（三）细菌鞭毛染色法 …… 147
（四）真菌细胞特殊结构染色法 …… 149
（五）支原体细胞的姬姆萨染色法 …… 150
三、菌斑细菌的刚果红负性染色法 …… 151
四、原虫涂片检查法 …… 152
（一）新鲜标本湿片检查 …… 152
（二）姬姆萨染色涂片检查 …… 152
第二节 分离培养和鉴定 …… 152
一、样本的采集和运送 …… 153
（一）样本的采集 …… 153
（二）样本的运送 …… 154
（三）样本的分散和稀释处理 …… 154
（四）标本的接种和孵育 …… 155
（五）生长特性和鉴别 …… 158
（六）微生物分析鉴定仪 …… 161
第三节 显微镜技术 …… 162

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

一、体视显微镜技术 …… 162
二、扫描电子显微镜技术 …… 164
（一）原理 …… 165
（二）操作流程 …… 165
（三）结果观察 …… 165
三、透射电镜实验技术 …… 170
（一）细菌样本的制备 …… 170
（二）切片 …… 170
（三）铀染色 …… 170
（四）镜下观察 …… 170
四、激光扫描共聚焦显微镜 …… 171
（一）组成及基本原理 …… 171
（二）在牙菌斑生物膜的研究中的应用 …… 171
第四节 生态学技术 …… 172
一、微生物生长曲线的测定 …… 172
（一）原理 …… 172
（二）方法 …… 173
二、菌落形成单位的测定 …… 173
（一）原理 …… 173
（二）方法 …… 173
三、黏附力及黏附抑制力的测定 …… 175
（一）黏附力的测定 …… 175
（二）黏附抑制率测定 …… 175
四、菌斑生物膜检测技术 …… 176
（一）生物膜形成实验 …… 176
（二）生物膜的检测分析 …… 177

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 目 录

图 1-1　真核细胞型微生物(假丝酵母菌) …… 1
图 1-2　原核细胞型微生物(细菌) …… 2
图 1-3　原核细胞型微生物(支原体) …… 2
图 1-4　非细胞型微生物(单纯疱疹病毒) …… 2
图 1-5　微生物大小的比较示例 …… 3
图 1-6　细菌的基本形态示例 …… 4
图 1-7　真菌的各种孢子 …… 4
图 1-8　真菌的各种菌丝 …… 5
图 1-9　主要病毒颗粒的形态与结构模式 …… 5
图 1-10　细菌细胞的结构模式示例 …… 5
图 1-11　金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖结构示例 …… 6
图 1-12　大肠埃希菌细胞壁的肽聚糖结构示例 …… 6
图 1-13　革兰阳性细菌的细胞壁结构模式图 …… 7
图 1-14　革兰阴性细菌的细胞壁结构模式图 …… 7
图 1-15　细菌 L 型的多形态(葡萄球菌) …… 8
图 1-16　细菌 L 型的菌落类型 …… 8
图 1-17　细菌的荚膜 …… 9
图 1-18　大肠埃希菌鞭毛结构模式图 …… 10
图 1-19　细菌鞭毛的各种类型 …… 10
图 1-20　伤寒沙门菌的鞭毛 …… 11
图 1-21　大肠埃希菌的鞭毛和菌毛 …… 11
图 1-22　细菌芽胞结构的示意图 …… 12
图 1-23　细菌芽胞的形状、大小和位置 …… 12

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 1-24　破伤风梭菌芽胞 ……12
图 1-25　病毒的基本结构 ……13
图 1-26　杆菌细胞二分裂过程的示例 ……14
图 1-27　革兰阳性细菌细胞壁的合成示例 ……14
图 1-28　革兰阳性细菌的分裂 ……14
图 1-29　大肠埃希菌的生长曲线 ……15
图 1-30　细胞内遗传信息的复制及转录、翻译合成蛋白质过程示例 ……16
图 1-31　DNA 的突变示例 ……16
图 1-32　噬菌体吸附于大肠埃希菌 ……17
图 1-33　噬菌体结构模式 ……17
图 1-34　溶原性细菌的溶原周期和溶菌周期 ……17
图 1-35　波动试验 ……18
图 1-36　影印培养 ……18
图 1-37　小鼠体内肺炎链球菌的转化试验 ……19
图 1-38　接合时 F 质粒的转移与复制 ……20
图 1-39　大肠菌素非接合性质粒被 F 质粒诱动传递 ……20
图 1-40　普遍性转导模式 ……20
图 1-41　局限性转导模式 ……21
图 2-1　金黄色葡萄球菌细胞 ……23
图 2-2　金黄色葡萄球菌细胞 ……23
图 2-3　金黄色葡萄球菌的金黄色菌落 ……24
图 2-4　金黄色葡萄球菌产生 β 溶血环菌落 ……24
图 2-5　金黄色葡萄球菌菌落 ……24
图 2-6　表皮葡萄球菌细胞 ……25
图 2-7　表皮葡萄球菌细胞 ……25
图 2-8　表皮葡萄球菌菌落 ……26
图 2-9　表皮葡萄球菌菌落 ……26
图 2-10　唾液链球菌细胞 ……27
图 2-11　唾液链球菌细胞 ……27
图 2-12　唾液链球菌的饭团样菌落 ……28
图 2-13　唾液链球菌菌落 ……28
图 2-14　唾液链球菌菌落 ……28
图 2-15　临床唾液样本中分离的唾液链球菌菌落 ……28
图 2-16　血链球菌细胞 ……29
图 2-17　血链球菌细胞 ……29
图 2-18　血链球菌菌落 ……30
图 2-19　血链球菌光滑型菌落 ……30
图 2-20　血链球菌菌落 ……30
图 2-21　格氏链球菌球状细胞 ……31
图 2-22　格氏链球菌矛尖状细胞 ……31

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 2-23 格氏链球菌细胞 ……32
图 2-24 格氏链球菌 α 溶血菌落 ……32
图 2-25 格氏链球菌 γ 溶血菌落 ……32
图 2-26 格氏链球菌菌落 ……33
图 2-27 变异链球菌细胞 ……33
图 2-28 变异链球菌液体培养物长链细胞 ……34
图 2-29 变异链球菌短链细胞 ……34
图 2-30 变异链球菌长链细胞 ……35
图 2-31 变异链球菌自凝细胞 ……35
图 2-32 变异链球菌菌落 ……36
图 2-33 变异链球菌菌落 ……36
图 2-34 变异链球菌光滑型和粗糙型菌落 ……36
图 2-35 变异链球菌液体培养物 ……36
图 2-36 表兄链球菌细胞 ……37
图 2-37 表兄链球菌细胞 ……37
图 2-38 表兄链球菌菌落 ……38
图 2-39 表兄链球菌菌落 ……38
图 2-40 表兄链球菌的 α- 溶血菌落 ……38
图 2-41 缓症链球菌细胞 ……39
图 2-42 缓症链球菌菌落 ……39
图 2-43 缓症链球菌光滑菌落 ……39
图 2-44 缓症链球菌 α- 溶血菌落 ……40
图 2-45 口腔链球菌细胞 ……40
图 2-46 口腔链球菌菌落 ……41
图 2-47 口腔链球菌 α- 溶血菌落 ……41
图 2-48 口腔链球菌菌落 ……41
图 2-49 酿脓链球菌细胞 ……42
图 2-50 酿脓链球菌细胞 ……42
图 2-51 酿脓链球菌菌落 ……43
图 2-52 酿脓链球菌 β 溶血菌落 ……43
图 2-53 酿脓链球菌黏液样菌落 ……43
图 2-54 酿脓链球菌无光泽菌落 ……43
图 2-55 肺炎链球菌矛尖状细胞 ……44
图 2-56 肺炎链球菌细胞的荚膜 ……44
图 2-57 肺炎链球菌细胞 ……45
图 2-58 肺炎链球菌菌落 ……45
图 2-59 肺炎链球菌的粘性菌落 ……45
图 2-60 肺炎链球菌粗糙型菌落 ……46
图 2-61 前庭链球菌细胞 ……46
图 2-62 前庭链球菌细胞 ……47

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 2-63　前庭链球菌菌落 ……47
图 2-64　前庭链球菌 α- 溶血菌落 ……47
图 2-65　甲型溶血性链球菌细胞 ……48
图 2-66　甲型溶血性链球菌细胞 ……48
图 2-67　甲型溶血性链球菌菌落 ……49
图 2-68　甲型溶血性链球菌菌落 ……49
图 2-69　乙型溶血性链球菌细胞 ……49
图 2-70　乙型溶血性链球菌细胞 ……50
图 2-71　乙型溶血性链球菌的 β- 溶血菌落 ……50
图 2-72　乙型溶血性链球菌菌落 ……50
图 2-73　粪肠球菌细胞 ……51
图 2-74　粪肠球菌细胞 ……51
图 2-75　粪肠球菌菌落 ……52
图 2-76　粪肠球菌菌落 ……52
图 2-77　粪肠球菌菌落 ……52
图 2-78　厌氧消化链球菌细胞 ……53
图 2-79　厌氧消化链球菌细胞 ……53
图 2-80　厌氧消化链球菌菌落 ……54
图 2-81　厌氧消化链球菌菌落 ……54
图 2-82　脑膜炎奈瑟菌细胞 ……55
图 2-83　脑膜炎奈瑟菌细胞 ……55
图 2-84　脑膜炎奈瑟菌菌落 ……56
图 2-85　脑膜炎奈瑟菌菌落 ……56
图 2-86　脑膜炎奈瑟菌菌落 ……56
图 2-87　黏膜炎莫拉菌细胞 ……57
图 2-88　黏膜炎莫拉菌细胞 ……57
图 2-89　黏膜炎莫拉菌菌落 ……58
图 2-90　黏膜炎莫拉菌菌落 ……58
图 2-91　小韦荣菌细胞 ……58
图 2-92　小韦荣菌细胞 ……59
图 2-93　小韦荣菌菌落 ……59
图 2-94　小韦荣菌菌落 ……59
图 2-95　龋齿罗斯菌细胞 ……60
图 2-96　龋齿罗斯菌细胞 ……61
图 2-97　龋齿罗斯菌菌落 ……61
图 2-98　龋齿罗斯菌菌落 ……62
图 2-99　衣氏放线菌细胞 ……63
图 2-100　衣氏放线菌细胞 ……63
图 2-101　衣氏放线菌的分支状细胞 ……64
图 2-102　衣氏放线菌菌落 ……64

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 2-103　衣氏放线菌的臼齿状菌落 ……64
图 2-104　牙菌斑样本中分离的衣氏放线菌菌落 ……65
图 2-105　内氏放线菌细胞 ……65
图 2-106　内氏放线菌细胞 ……66
图 2-107　内氏放线菌菌落 ……66
图 2-108　内氏放线菌菌落 ……66
图 2-109　内氏放线菌液体培养物 ……67
图 2-110　龋齿放线菌细胞 ……67
图 2-111　龋齿放线菌细胞 ……68
图 2-112　龋齿放线菌菌落 ……68
图 2-113　龋齿放线菌的红色菌落 ……68
图 2-114　牙菌斑中的龋齿放线菌菌落 ……69
图 2-115　粘性放线菌细胞 ……69
图 2-116　粘性放线菌细胞 ……70
图 2-117　粘性放线菌细胞 ……70
图 2-118　粘性放线菌菌落 ……71
图 2-119　粘性放线菌菌落 ……71
图 2-120　痤疮丙酸杆菌细胞 ……72
图 2-121　痤疮丙酸杆菌细胞 ……72
图 2-122　痤疮丙酸杆菌细胞 ……73
图 2-123　痤疮丙酸杆菌菌落 ……73
图 2-124　痤疮丙酸杆菌菌落 ……73
图 2-125　迟缓真杆菌细胞 ……74
图 2-126　迟缓真杆菌细胞 ……75
图 2-127　迟缓真杆菌菌落 ……75
图 2-128　迟缓真杆菌菌落 ……75
图 2-129　齿双歧杆菌细胞 ……76
图 2-130　齿双歧杆菌菌落 ……77
图 2-131　齿双歧杆菌菌落 ……77
图 2-132　齿双歧杆菌菌落 ……77
图 2-133　短双歧杆菌细胞 ……78
图 2-134　短双歧杆菌细胞 ……78
图 2-135　短双歧杆菌细胞 ……79
图 2-136　短双歧杆菌菌落 ……79
图 2-137　短双歧杆菌菌落 ……79
图 2-138　嗜酸乳杆菌细胞 ……80
图 2-139　嗜酸乳杆菌细胞 ……81
图 2-140　嗜酸乳杆菌菌落 ……81
图 2-141　嗜酸乳杆菌菌落 ……81
图 2-142　嗜酸乳杆菌粗糙型菌落 ……82

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 2-143 嗜酸乳杆菌光滑型菌落 ……82
图 2-144 嗜酸乳杆菌粗糙型菌落表面特征 ……82
图 2-145 干酪乳杆菌细胞 ……83
图 2-146 干酪乳杆菌细胞 ……83
图 2-147 干酪乳杆菌菌落 ……84
图 2-148 干酪乳杆菌菌落 ……84
图 2-149 干酪乳杆菌乳酪样菌落 ……84
图 2-150 发酵乳杆菌细胞 ……85
图 2-151 发酵乳杆菌细胞 ……85
图 2-152 发酵乳杆菌菌落 ……86
图 2-153 发酵乳杆菌菌落中心的同心圆结构 ……86
图 2-154 发酵乳杆菌的表面光滑菌落和带纹路的不光滑黏液样菌落 ……86
图 2-155 大肠埃希菌细胞 ……87
图 2-156 大肠埃希菌细胞 ……87
图 2-157 大肠埃希菌菌落 ……88
图 2-158 大肠埃希菌菌落 ……88
图 2-159 流感嗜血菌细胞 ……89
图 2-160 流感嗜血菌细胞 ……89
图 2-161 流感嗜血菌菌落 ……90
图 2-162 流感嗜血菌的黏稠菌落 ……90
图 2-163 流感嗜血菌菌落 ……90
图 2-164 伴放线菌嗜血菌细胞 ……91
图 2-165 伴放线菌嗜血菌细胞 ……91
图 2-166 伴放线菌嗜血菌细胞 ……92
图 2-167 伴放线菌嗜血菌菌落 ……92
图 2-168 伴放线菌嗜血菌菌落 ……92
图 2-169 伴放线菌嗜血菌菌落 ……93
图 2-170 啮蚀艾肯菌细胞 ……93
图 2-171 啮蚀艾肯菌细胞 ……94
图 2-172 啮蚀艾肯菌细胞 ……94
图 2-173 啮蚀艾肯菌菌落 ……95
图 2-174 啮蚀艾肯菌侵蚀性菌落 ……95
图 2-175 啮蚀艾肯菌侵蚀性菌落中心的珍珠环结构 ……95
图 2-176 牙龈二氧化碳噬纤维菌细胞 ……97
图 2-177 牙龈二氧化碳噬纤维菌细胞 ……97
图 2-178 牙龈二氧化碳噬纤维菌细胞 ……98
图 2-179 牙龈二氧化碳噬纤维菌菌落 ……98
图 2-180 牙龈二氧化碳噬纤维菌毛发状扩散菌落 ……98
图 2-181 生痰二氧化碳噬纤维菌细胞 ……99
图 2-182 生痰二氧化碳噬纤维菌细胞 ……99

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 2-183 生痰二氧化碳噬纤维菌细胞 …… 100
图 2-184 生痰二氧化碳噬纤维菌菌落 …… 100
图 2-185 生痰二氧化碳噬纤维菌表面呈丝网状结构的菌落 …… 100
图 2-186 脆弱拟杆菌细胞 …… 101
图 2-187 脆弱拟杆菌细胞 …… 102
图 2-188 脆弱拟杆菌细胞 …… 102
图 2-189 脆弱拟杆菌菌落 …… 103
图 2-190 脆弱拟杆菌菌落 …… 103
图 2-191 多形拟杆菌球形细胞 …… 103
图 2-192 多形拟杆菌多形态细胞 …… 104
图 2-193 多形拟杆菌的多形态细胞 …… 104
图 2-194 多形拟杆菌的多形态细胞 …… 105
图 2-195 多形拟杆菌菌落 …… 105
图 2-196 多形拟杆菌菌落 …… 105
图 2-197 具核梭杆菌细胞 …… 106
图 2-198 具核梭杆菌细胞 …… 107
图 2-199 具核梭杆菌细胞 …… 107
图 2-200 具核梭杆菌菌落 …… 108
图 2-201 具核梭杆菌的“面包屑样”菌落 …… 108
图 2-202 唾液样本中分离的具核梭杆菌菌落 …… 108
图 2-203 坏死梭杆菌的丝状体细胞 …… 109
图 2-204 坏死梭杆菌带有颗粒内涵物的丝状体细胞 …… 109
图 2-205 坏死梭杆菌的杆菌细胞 …… 110
图 2-206 坏死梭杆菌细胞 …… 110
图 2-207 坏死梭杆菌细胞 …… 111
图 2-208 坏死梭杆菌产生 α 溶血的菌落 …… 111
图 2-209 坏死梭杆菌产生 β 溶血环的菌落 …… 111
图 2-210 坏死梭杆菌菌落 …… 112
图 2-211 坏死梭杆菌带有镶嵌内部结构的锯齿形菌落 …… 112
图 2-212 坏死梭杆菌菌落的线团样结构 …… 112
图 2-213 可变梭杆菌细胞 …… 113
图 2-214 可变梭杆菌细胞 …… 113
图 2-215 可变梭杆菌细胞 …… 114
图 2-216 可变梭杆菌菌落 …… 114
图 2-217 可变梭杆菌菌落 …… 114
图 2-218 中间普雷沃菌细胞 …… 115
图 2-219 中间普雷沃菌球杆状和短杆状细胞 …… 116
图 2-220 中间普雷沃菌球状细胞 …… 116
图 2-221 中间普雷沃菌菌落 …… 117
图 2-222 中间普雷沃菌菌落 …… 117

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 2-223 变黑普雷沃菌细胞 …… 117
图 2-224 变黑普雷沃菌细胞 …… 118
图 2-225 变黑普雷沃菌菌落 …… 118
图 2-226 变黑普雷沃菌菌落 …… 119
图 2-227 产黑色素普雷沃菌细胞 …… 119
图 2-228 产黑色素普雷沃菌细胞 …… 120
图 2-229 产黑色素普雷沃菌菌落 …… 120
图 2-230 产黑色素普雷沃菌菌落 …… 120
图 2-231 产黑色素普雷沃菌菌落 …… 121
图 2-232 人体普雷沃菌细胞 …… 121
图 2-233 人体普雷沃菌细胞 …… 122
图 2-234 人体普雷沃菌菌落 …… 122
图 2-235 人体普雷沃菌菌落 …… 122
图 2-236 洛氏普雷沃菌细胞 …… 123
图 2-237 洛氏普雷沃菌细胞 …… 123
图 2-238 洛氏普雷沃菌细胞 …… 124
图 2-239 洛氏普雷沃菌菌落 …… 124
图 2-240 洛氏普雷沃菌菌落 …… 125
图 2-241 牙龈卟啉单胞菌细胞 …… 126
图 2-242 牙龈卟啉单胞菌细胞 …… 126
图 2-243 牙龈卟啉单胞菌菌落 …… 127
图 2-244 牙龈卟啉单胞菌菌落 …… 127
图 2-245 牙髓卟啉单胞菌细胞 …… 127
图 2-246 牙髓卟啉单胞菌细胞 …… 128
图 2-247 牙髓卟啉单胞菌菌落 …… 128
图 2-248 牙髓卟啉单胞菌菌落 …… 129
图 2-249 菌斑样本中的螺旋体细胞 …… 130
图 2-250 菌斑样本中的大、中、小螺旋体细胞 …… 130
图 2-251 菌斑样本中的密螺旋体和疏螺旋体细胞 …… 131
图 2-252 白假丝酵母菌细胞 …… 132
图 2-253 白假丝酵母菌细胞 …… 132
图 2-254 白假丝酵母菌细胞 …… 133
图 2-255 热带假丝酵母菌细胞 …… 133
图 2-256 光滑假丝酵母菌细胞 …… 134
图 2-257 克鲁斯假丝酵母菌细胞 …… 134
图 2-258 白假丝酵母菌菌落 …… 135
图 2-259 白假丝酵母菌菌落 …… 135
图 2-260 白假丝酵母菌菌落 …… 135
图 2-261 口腔黏膜样本中分离的白假丝酵母菌 …… 135
图 2-262 白假丝酵母菌绿色菌落 …… 136

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 2-263 白假丝酵母菌菌落 …… 136
图 2-264 热带假丝酵母菌蓝色菌落 …… 136
图 2-265 光滑假丝酵母菌紫色菌落 …… 136
图 2-266 光滑假丝酵母菌紫色菌落 …… 136
图 2-267 克鲁斯假丝酵母菌粉红色菌落 …… 136
图 2-268 克鲁斯假丝酵母菌粉红色菌落 …… 137
图 2-269 白假丝酵母菌的芽生孢子和芽管 …… 137
图 2-270 白假丝酵母菌的芽生孢子和芽管 …… 137
图 2-271 白假丝酵母菌菌落 …… 137
图 2-272 白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子 …… 137
图 2-273 白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子 …… 138
图 2-274 肺炎支原体细胞 …… 138
图 2-275 肺炎支原体的指环状细胞 …… 139
图 2-276 肺炎支原体的煎蛋状菌落 …… 139
图 2-277 肺炎支原体的桑椹形菌落 …… 140
图 2-278 HSV 病毒在 vero 细胞中增殖 …… 141
图 2-279 HSV 病毒在 vero 细胞中的增殖 …… 141
图 3-1 细菌涂片程序 …… 142
图 3-2 革兰染色法的步骤 …… 143
图 3-3 内氏放线菌 …… 144
图 3-4 白假丝酵母菌 …… 144
图 3-5 啮蚀艾肯菌 …… 145
图 3-6 肺炎支原体 …… 145
图 3-7 枯草杆菌芽胞 …… 146
图 3-8 破伤风梭菌芽胞 …… 146
图 3-9 肺炎链球菌的荚膜 …… 147
图 3-10 组织荚膜胞浆菌的荚膜 …… 148
图 3-11 变形杆菌的周鞭毛 …… 148
图 3-12 白假丝酵母菌的芽管和芽生孢子 …… 149
图 3-13 白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子 …… 149
图 3-14 白假丝酵母菌的芽管和芽生孢子 …… 150
图 3-15 白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子 …… 150
图 3-16 支原体细胞 …… 151
图 3-17 牙菌斑细菌 …… 151
图 3-18 牙龈阿米巴滋养体示例 …… 152
图 3-19 口腔毛滴虫滋养体示例 …… 152
图 3-20 样本采集法 …… 153
图 3-21 样本的运送 …… 154
图 3-22 样本的分散 …… 154
图 3-23 样本的稀释 …… 155

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 3-24　倾注平板法的操作程序 ………… 155
图 3-25　涂布法的平板菌落 ………… 156
图 3-26　滴注法的接种程序 ………… 156
图 3-27　滴注法的平板菌落 ………… 156
图 3-28　螺旋仪接种法的平板菌落 ………… 157
图 3-29　厌氧手套箱 ………… 157
图 3-30　β 溶血反应 ………… 158
图 3-31　α 溶血反应 ………… 158
图 3-32　白色色素 ………… 158
图 3-33　绿色色素 ………… 158
图 3-34　黑色色素 ………… 159
图 3-35　产生气体 ………… 159
图 3-36　迁移生长 ………… 159
图 3-37　糖发酵试验 ………… 159
图 3-38　甲基红试验 ………… 160
图 3-39　枸橼酸试验 ………… 160
图 3-40　硫化氢试验 ………… 160
图 3-41　革兰阳性厌氧球菌系列 II ………… 161
图 3-42　革兰阴性无芽胞厌氧短杆菌系列 II ………… 161
图 3-43　WASP 螺旋接种仪 ………… 161
图 3-44　螺旋接种仪的平板菌落 ………… 161
图 3-45　Protocol-SR 自动微生物分析仪 ………… 162
图 3-46　MicroStation 自动微生物鉴定仪 ………… 162
图 3-47　牙菌斑样本中的分离细菌 ………… 163
图 3-48　唾液细菌的菌落特征 ………… 163
图 3-49　生痰二氧化碳嗜纤维菌的扩散生长菌落 ………… 163
图 3-50　格氏链球菌的 α 溶血菌落 ………… 163
图 3-51　白假丝酵母菌菌落 ………… 163
图 3-52　唾液样本的细菌菌落 ………… 163
图 3-53　龈缘样本的细菌菌落 ………… 164
图 3-54　龈下非附着菌斑的细菌菌落 ………… 164
图 3-55　牙周袋内样本的细菌菌落 ………… 164
图 3-56　乙型溶血性链球菌的增殖细胞 ………… 165
图 3-57　甲型溶血性链球菌细胞的分裂象 ………… 166
图 3-58　格氏链球菌的增殖细胞 ………… 166
图 3-59　发酵乳杆菌细胞的增殖态 ………… 167
图 3-60　龋齿罗斯菌的自凝细胞 ………… 167
图 3-61　生痰二氧化碳嗜纤维菌细胞的集聚 ………… 168
图 3-62　牙龈卟啉单胞菌细胞大量的胞外物质 ………… 168
图 3-63　白假丝酵母菌的出芽细胞 ………… 169

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

图 3-64 龈缘菌斑中的螺旋体 ······ 169
图 3-65 龈缘菌斑中的螺旋体 ······ 170
图 3-66 在 HEK293 细胞中的腺病毒 ······ 170
图 3-67 激光扫描共聚焦显微镜 ······ 171
图 3-68 激光扫描共聚焦显微镜光路示意图 ······ 171
图 3-69 变异链球菌生物膜 ······ 172
图 3-70 生长曲线示例 ······ 173
图 3-71 涂布法图示 ······ 174
图 3-72 涂布法平板菌落 ······ 174
图 3-73 滴注法平板菌落 ······ 174
图 3-74 滴注法平板菌落 ······ 174
图 3-75 滴注法平板菌落 ······ 175
图 3-76 黏附力测定的操作流程 ······ 175
图 3-77 黏附抑制力测定的操作流程 ······ 176
图 3-78 生物膜检测微孔板 ······ 176
图 3-79 黏性放线菌在牛牙本质上形成的 36h 生物膜 ······ 177
图 3-80 伴放线菌嗜血菌在牛牙本质上形成的 48h 生物膜 ······ 177
图 3-81 感染根管临床样本的生物膜 ······ 178
图 3-82 变异链球菌 24h 生物膜结构 ······ 178
图 3-83 变异链球菌 48h 生物膜结构 ······ 179

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

第一章

微生物细胞学基础

细胞是所有生物的基本单元，细胞中含有各种亚细胞结构和大量的化学物质是细胞功能的基础。微生物按照形态结构、分化程度及化学组成分为三大类：真核细胞型微生物（eukaryote）、原核细胞型微生物（prokaryote）和非细胞型微生物（图 1-1～图 1-4）。



图 1-1　真核细胞型微生物（假丝酵母菌，扫描电镜 ×10 000）
真核细胞型微生物的细胞核分化程度高，有核膜、核仁与染色体，细胞质内细胞器完整，进行有丝分裂，如真菌、藻类等

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

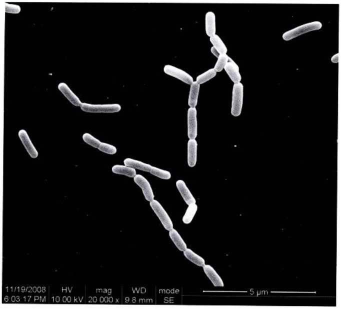


图 1-2　原核细胞型微生物（细菌）扫描电镜 ×10 000）

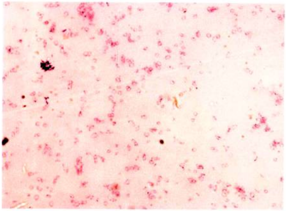


图 1-3　原核细胞型微生物（支原体）

原核细胞型微生物细胞内仅有原始核质，无核膜与核仁，缺乏细胞器，具有细胞膜。原核细胞型微生物包括细菌、支原体、衣原体、立克次体

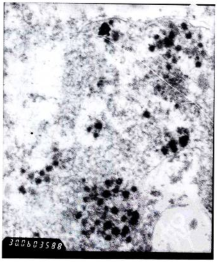


图 1-4　非细胞型微生物（单纯疱疹病毒）

非细胞型微生物是最小的一类微生物，无典型的细胞结构，无产生能量的酶系统，由单一核酸（DNA/RNA）和蛋白质衣壳组成，只能在活细胞内才能增殖，如病毒和亚病毒等

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

第一节 微生物的大小与形态

微生物（microorganism、microbe）是一类肉眼不能直接观察到，必须借助光学显微镜或电子显微镜才能看到的微小生物。它们具有形体微小、结构简单、种类繁多、分布广泛、繁殖迅速、容易变异、成群聚集等特点。

一、微生物的大小

微生物的种类繁多，其大小各不相同，通常以微米（μm）或纳米（nm）作为测量单位。多数球菌的直径为1μm左右；杆菌分为球杆菌、短杆菌和长杆菌，长约1～10μm，宽0.3～1μm；螺旋体长6～20μm，宽0.1～0.2μm。真菌比细菌大几倍至几十倍。绝大多数病毒体小于150nm，必须用电子显微镜观察。同一种微生物因菌龄与环境等因素的影响，其大小也有差异，见图1-5。

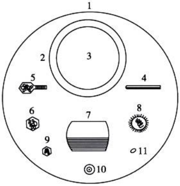


图1-5 微生物大小的比较示例

1. 葡萄球菌1 000nm 2. 立克次体450nm 3. 衣原体390nm 4. 烟草花叶病病毒300nm×15nm 5. 大肠埃希菌噬菌体头部65nm×95nm，尾部12nm×100nm 6. 腺病毒70nm 7. 痘病毒300nm×230nm 8. 流感病毒100nm 9. 脊髓灰质炎病毒30nm 10. 乙型脑炎病毒40nm 11. 卵蛋白分子10nm

二、微生物的形态

不同的微生物形态各不相同。在适宜条件下，微生物的形态和结构相对稳定。

了解其形态结构特征，对研究微生物的生理活动、致病机制、免疫学特性，以及鉴别微生物、诊断疾病和防治微生物感染等都有重要的实际意义。

（一）细菌

细菌种类复杂，形态变化大，其基本形态可分为球形（球菌）、杆形（杆菌）、弧形（弧菌）及螺旋形（螺旋体）等（图1-6）。

（二）真菌

真菌细胞按形态可分为单细胞和多细胞两大类。单细胞真菌呈圆形或卵圆形，见于酵母菌或类酵母菌；多细胞真菌有菌丝和孢子，不同的真菌菌丝和孢子的形态各异（图1-7和图1-8）。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

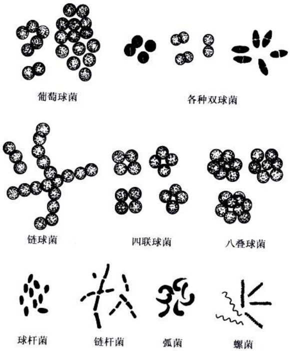


图 1-6　细菌的基本形态示例

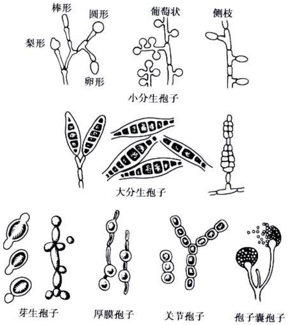


图 1-7　真菌的各种孢子

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

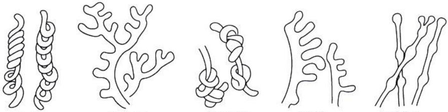


图 1-8　真菌的各种菌丝

（三）病毒

大多数病毒呈球形或近似球形，少数呈杆状（植物病毒多见）、丝状体（如初分离时的流感病毒）、子弹状（如狂犬病毒）、砖形（如痘类病毒）和蝌蚪状（如噬菌体）（图 1-9）。

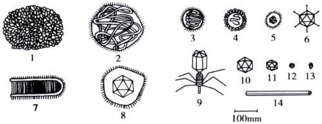


图 1-9　主要病毒颗粒的形态与结构模式

1. 痘病毒　2. 副黏病毒　3. 正黏病毒　4. 冠状病毒　5. 披膜病毒　6. 腺病毒　7. 子弹状病毒　8. 疱疹病毒　9. T2 噬菌体　10. 呼肠弧病毒　11. 乳多空病毒　12. 小核糖核酸病毒　13. 小脱氧核糖核酸病毒　14. 烟草花叶病病毒

第二节　微生物的结构

不同种类的微生物，其结构虽各不相同，但也有相似之处。

一、细菌的基本结构

细菌细胞的结构分为基本结构和特殊结构，基本结构包括细胞壁、细胞膜、细胞质、核质、核糖体和质粒等，特殊结构（存在于某些细菌）包括鞭毛、菌毛、荚膜和芽胞等（图 1-10）

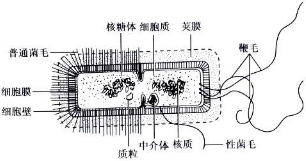


图 1-10　细菌细胞的结构模式示例

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（一）细胞壁（cellwall）

是细菌最外层结构，紧贴于细胞膜之外，无色透明，坚韧而有弹性。厚度平均为15～30nm。肽聚糖（peptidoglycan）又称黏肽（mucopeptide）、糖肽（glycopeptide）或胞壁质（murein），是细菌细胞壁的主要化学成分，为原核细胞型微生物所特有。以革兰染色（Gramstaining）可将细菌分为革兰阳性菌和革兰阴性菌两大类。

革兰阳性菌的肽聚糖由聚糖骨架、四肽侧链和五肽交联桥三部分组成（图1-11）。

革兰阴性菌的肽聚糖仅由聚糖骨架和四肽侧链两部分组成（图1-12）。

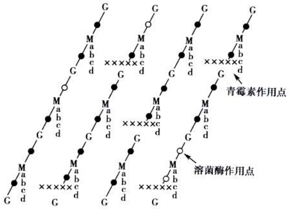


图1-11 金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖结构示例

M：N-乙酰胞壁酸　G：N-乙酰葡糖胺　O：β-1，4糖苷键
a：L-丙氨酸　b：D-谷氨酸　c：L-赖氨酸
d：D-丙氨酸　x：甘氨酸

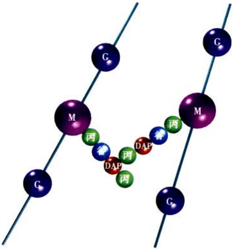


图1-12 大肠埃希菌细胞壁的肽聚糖结构示例

M：N-乙酰胞壁酸；G：N-乙酰葡糖胺；丙：丙氨酸；谷：谷氨酸；DAP：二氨基庚二酸

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

除肽聚糖结构外，革兰阳性细菌和革兰阴性细菌的细胞壁又各自有其特殊组分（图 1-13 和图 1-14）。某些革兰阳性细菌细胞壁表面还有一些其他成分，如复合多糖、表面蛋白以及如链球菌的 M 蛋白、G 蛋白和金黄色葡萄球菌的 A 蛋白等。

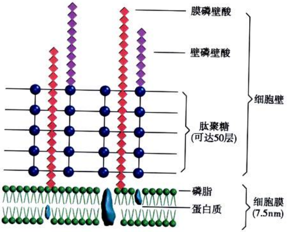


图 1-13 革兰阳性细菌的细胞壁结构模式图

细胞壁较厚（20～80nm），肽聚糖结构多达 15～50 层，除肽聚糖外，还含有大量的磷壁酸和少数的磷壁醛酸。磷壁酸是革兰阳性细菌细胞壁特有的成分和重要的表面抗原，与血清型分类有关。磷壁酸约占细胞壁干质量的 50%，是由核糖醇（ribitol）或甘油残基经磷酸二酯键互相连接而成的多聚物，以多个磷壁酸分子组成长链形式穿插于肽聚糖层中。据其结合部位分为壁磷壁酸（wall teichoic acid）和膜磷壁酸（membrane teichoic acid，即脂磷壁酸：lipoteichoicacid、LTA）

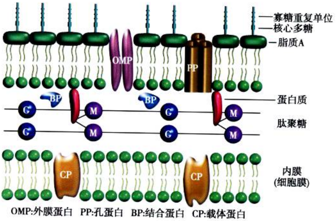


图 1-14 革兰阴性细菌的细胞壁结构模式图

细胞壁较薄（10～15nm），但结构复杂。肽聚糖结构仅有 1～2 层。在肽聚糖层外为外膜（outer membrane），外膜是革兰阴性细菌细胞壁的主要结构，占细胞壁干重的 80%，由三层结构构成，由内向外依次为脂蛋白（lipoprotein）、脂质双层和脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）

M：N- 乙酰胞壁酸，G：N- 乙酰葡萄糖胺

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（二）细胞壁缺陷型（细菌 L 型）

当细胞壁中的肽聚糖结构受到理化或生物因素的直接破坏或合成被抑制时，细胞壁发生变化。革兰阳性细菌细胞壁缺失后，原生质仅被一层细胞膜包住，称为原生质体；革兰阴性菌肽聚糖层受损后尚有外膜保护，称为原生质球。细胞壁受损后还能够生长和分裂的细菌称为细菌细胞壁缺陷型，因 Klieneberger（1935 年）首先在法国 Lister 研究院发现细菌细胞壁缺陷型，故取其第一个字母"L"命名，称为细菌 L 型。细菌 L 型因缺失细胞壁而呈高度多形性，大小不一，有球形、杆状和丝状等（图 1-15），其生长繁殖较原菌缓慢，在琼脂平板上形成典型菌落（图 1-16）。在去除诱发因素后，有些 L 型可回复为原菌。L 型不易染色，着色不均，多呈革兰染色阴性。

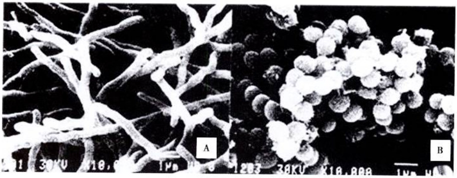


图 1-15　细菌 L 型的多形态（葡萄球菌）

A．临床标本分出的丝状 L 型菌落（扫描电镜，×10 000）

B．丝状 L 型菌落回复后（扫描电镜，×10 000）

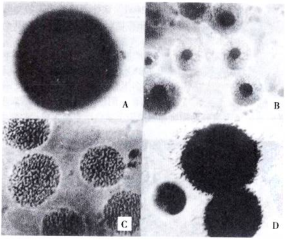


图 1-16　细菌 L 型的菌落类型

细菌 L 型在培养 2～7d 后在软琼脂平板上，形成典型的"油煎蛋"样细小菌落，或颗粒状或丝状菌落　A．原细菌型菌落　B．荷包蛋样 L 型菌落　C．颗粒型 L 型菌落　D．丝状型 L 型菌落（×40）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（三）细胞膜（cell member）

细胞膜是一层半通透膜，位于细胞壁内侧，紧密地包绕着细胞质，由脂质双层构成，厚约7.5nm，柔韧致密，富有弹性，占细胞干质量的10%～30%。细菌细胞膜的结构与真核细胞基本相同，但不含胆固醇。其内镶嵌着具有特殊功能的载体蛋白和酶蛋白。

有些细菌的细胞膜能反复折叠并内陷于细胞质内，形成囊状的小体称中介体。中介体的功能类似于真核细胞的线粒体，故亦称为拟线粒体。

（四）细胞质（cytoplasm）

细胞质是细胞膜所包绕的胶状物质，基本成分是水、蛋白质、脂类、核酸、无机盐等。细胞质是细菌新陈代谢的重要场所，其中还含有一些有形成分如核糖体、质粒、胞质颗粒等亚显微结构。

核糖体（ribosome）　游离于细胞质中，核糖体直径为15～20nm，由50S+30S两个亚基组成，其结合有赖于Mg^{2+}的存在；化学成分70%是RNA，30%为蛋白质。

质粒（plasmid）是染色体外的遗传物质，为环状闭合的双链DNA。质粒能独立自行复制并通过接合或转导作用等将耐药性、细菌素产生和毒素形成等有关性状传递给另一细菌。

胞质颗粒（cytoplasmicgranules）是胞质中含有的各种内含颗粒的总称，多数为一种营养和能量的贮存物，包括多糖、脂类、磷酸盐等，并非是细菌生命所必需的或恒定的结构。用特殊染色可将此颗粒染成与菌体其他部位不同的颜色，故称异染颗粒。

（五）核质（nuclearmaterial）

核质是细菌的染色体，由裸露的双链DNA堆积而成，因而无核膜和核仁，也无组蛋白包绕，故又称拟核（nucleoid）。其功能与细胞核的功能类似，决定细菌的生命活动，控制细菌的生长代谢、分裂繁殖、遗传和变异等。

二、细菌的特殊结构

（一）荚膜（capsule）

荚膜是某些细菌合成并分泌至细胞壁外围的一层黏液性多聚物，当黏液层厚度小于0.2μm时，于光镜下不易见到，称微荚膜，当其厚度大于0.2μm，且与细胞壁牢固结合，在光学显微镜下见明显界限者称为荚膜或大荚膜。普通染色时，荚膜呈负染色，光镜下可见菌体外一层无色透明圈。用特殊染色，可将荚膜染成与菌体不同的颜色（图1-17）。大多数细菌的荚膜是由多糖组成，少数细菌的荚膜为多肽组成。

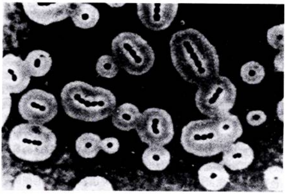


图1-17　细菌的荚膜

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

荚膜多糖为高度水合分子，水分占95%以上，与菌细胞表面的磷脂或类脂A共价结合。荚膜是构成细菌致病性的重要因素，包括：抗宿主细胞吞噬的作用、保护作用和黏附作用。

（二）鞭毛（flagellum）

鞭毛是由细胞膜伸出的细长而弯曲的丝状物，通常长5～20μm，直径很细，仅为10～30nm。鞭毛是可动细菌（如月形单胞菌、沃林菌）的运动器官，少则1～2根，多者达数百根。鞭毛自细胞膜长出，游离于菌细胞外，由基础小体、钩状体和丝状体3个部分组成（图1-18）。鞭毛须用电子显微镜观察或经特殊染色后在普通光学显微镜下观察（图1-19，图1-20）。鞭毛与致病性有关并具有较强的抗原性（H抗原），如霍乱弧菌、空肠弯曲杆菌等通过活泼的鞭毛运动，可以穿透覆盖在小肠黏膜表面的黏液层，使菌体黏附于肠黏膜上皮细胞，产生毒性物质。

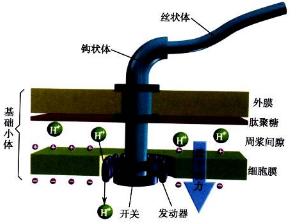


图1-18　大肠埃希菌鞭毛结构模式图

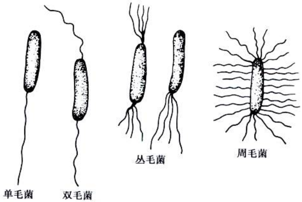


图1-19　细菌鞭毛的各种类型

基础小体（basalbody）：位于鞭毛根部，嵌在细胞壁和细胞膜中，是鞭毛的输出装置，其发动器为鞭毛运动提供能量，近旁的开关决定鞭毛转动的方向。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

钩状体(hook):位于鞭毛伸出菌体之处,呈约90°的钩状弯曲。鞭毛由此转弯向外伸出成丝状体。

丝状体(filament):呈纤丝状,伸出于菌体外,是鞭毛蛋白紧密排列并缠绕而成的中空管状结构。其作用犹如船舶或飞机的螺旋桨推进器。

根据鞭毛的数目、位置等可将有鞭毛的细菌分为单毛菌、双毛菌、丛毛菌和周毛菌。

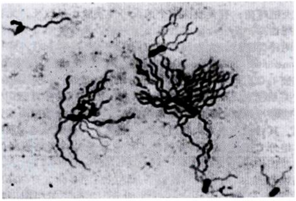


图 1-20　伤寒沙门菌的鞭毛(鞭毛染色)

(三)菌毛(pilus)

菌毛是一种与细菌定植和引起感染有关的黏附结构,必须用电子显微镜观察(图 1-21)。菌毛由结构蛋白亚单位菌毛蛋白(pilin)组成,呈螺旋状排列成圆柱体。新形成的菌毛蛋白分子插入菌毛的基底部。菌毛蛋白具有抗原性,其编码基因位于细菌的染色体或质粒上。菌毛与细菌的运动无关,从形态、分布和功能分为普通菌毛(ordinarypilus)与性菌毛(sexpilus)两种。

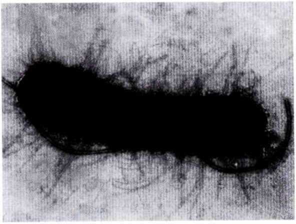


图 1-21　大肠埃希菌的鞭毛和菌毛(透射电镜 ×42 500)

菌毛是许多革兰阴性细菌与少数革兰阳性细菌的菌体周围,具有比鞭毛更细、更短且刚直的丝状附属物。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频,微信公众号里搜索qzkqsp1(茄子口腔视频1首字母)即可关注

普通菌毛长 0.3～1.0μm，直径约 7nm，数量多遍布于菌细胞表面性菌毛见于少数革兰阴性细菌，比普通菌毛长和粗，每个菌体仅有 1～4 根。

（四）芽胞（spore）

某些细菌在一定的环境条件下胞质脱水浓缩，在菌体内形成具有多层膜包裹、通透性低的一个圆形或椭圆形小体，称为芽胞（图 1-22）。能形成芽胞的细菌均为革兰阳性细菌，如枯草芽胞杆菌、破伤风梭菌等。芽胞带有完整的核质与酶系统等，并保持着细菌的全部生命活性。

芽胞的多层膜由外向内依次是芽胞外衣、芽胞壳、外膜、皮质、芽胞壁、内膜等，其内包裹芽胞的核心，芽胞壁厚不易着色，经特殊的芽胞染色可被染成与菌体不同的颜色。

芽胞的大小、形态和位置随菌种而异，有助于细菌的鉴别（图 1-23），如破伤风梭菌的芽胞呈大于菌体横径的正圆形，位于菌体顶端呈特殊的鼓槌状（图 1-24）。

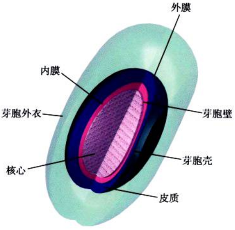


图 1-22　细菌芽胞结构的示意图

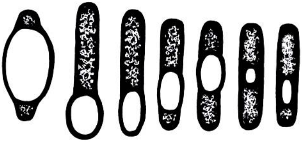


图 1-23　细菌芽胞的形状、大小和位置



图 1-24　破伤风梭菌芽胞（透射电镜 ×21 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

三、病毒的基本结构

病毒为非细胞型微生物，无细胞结构，主要由核酸和蛋白质构成，有的还有少量脂类与糖类。病毒的基本结构主要为病毒核心和病毒衣壳，个别还具有包膜（图 1-25）。病毒的大小、形态和结构在病毒分类学中具有重要价值，也能在诊断病毒感染中得到应用。

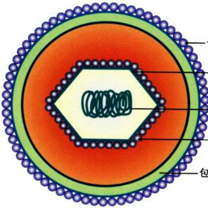


图 1-25 病毒的基本结构

（一）病毒核心（viral core）

即核酸，构成病毒的基因组，为病毒的致病性、抗原性、增殖、遗传和变异等功能提供遗传信息。其化学成分为 DNA 或 RNA，借此分成 DNA 病毒和 RNA 病毒两大类。核酸可为单链或双链，相对分子质量为（2～160）×10^6。

（二）病毒衣壳（viral capsid）

是包围在病毒核酸外的一层蛋白质外壳。衣壳与核酸在一起称为核衣壳。无包膜的病毒，核衣壳就是病毒体。衣壳是由一定数量的形态学亚单位 -- 壳粒聚合而成。每个壳粒又由一个或多个多肽分子组成，这些多肽分子被称为化学亚单位或结构亚单位。

（三）包膜（envelope）

一些病毒在核衣壳外包裹着的 1～2 层膜，为这类病毒所特有的辅助结构。包膜是病毒在成熟过程中穿过宿主细胞以出芽方式向细胞外释放时获得的，故含有宿主细胞膜或核膜的化学成分。有的包膜表面有钉状突起，称为包膜子粒或刺突。

第三节 微生物生理及遗传

一、细菌的生长与繁殖

细菌细胞是一个可自身复制的合成机器，其生长过程包括约 2 000 种不同类型的，与能量转换或酶生物合成有关的生化反应。

（一）二分裂繁殖

二分裂（binary fission）是许多原核生物，从单细胞生长直到细胞分裂成两个新的细胞的过程（图 1-26）。细菌以二分裂进行无性繁殖，球菌可从不同平面分裂，分裂后形成不同的排

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

列方式。杆菌则沿横轴分裂，但个别细菌，如结核分支杆菌偶有分支繁殖的方式。

细胞分裂过程中，细胞体积增大直至细胞间生成隔膜，然后细胞分裂成两个细胞（图 1-27 和图 1-28）。在适宜条件下，多数细菌繁殖速度都很快，分裂 1 次仅需 20～30min。个别细菌繁殖速度则较慢，如结核分支杆菌经 18～20h 才分裂 1 次。

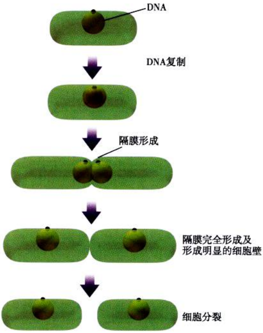


图 1-26　杆菌细胞二分裂过程的示例

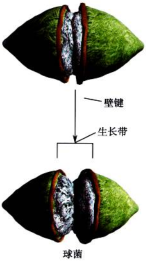


图 1-27　革兰阳性细菌细胞壁的合成示例

细胞分裂过程中，细胞体积增大时，新的细胞壁合成，新壁物质某种方式加到先存在的壁上，保持结构的完整性

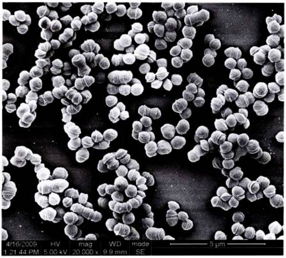


图 1-28　革兰阳性细菌的分裂（扫描电镜 ×20 000）

格氏链球菌的细胞分裂，可见清晰的分裂桥

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（二）细菌的生长

掌握细菌的生长规律，可以人为地改变培养条件，调整细菌的生长繁殖阶段，更有效地利用对人类有益的细菌。将一定数量的细菌接种于适宜液体培养基中，间隔不同时间取样检查活菌数，以培养时间为横坐标，培养物中活菌数的对数为纵坐标，可绘出一条分为4个时期的生长曲线（图1-29）。

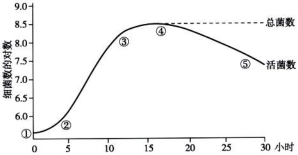


图1-29　大肠埃希菌的生长曲线

①～②迟缓期（lag phase）：是细菌适应新环境的过程。该期细菌菌体增大，代谢活跃，但分裂迟缓，繁殖极少

②～③对数期（logarithmic phase）：细菌在该期生长迅速，以恒定速度进行分裂繁殖，菌数以几何级数增长，活菌数目呈对数直线上升

③～④稳定期（stationary phase）：细菌繁殖速度渐趋下降，而死菌数逐渐上升，细菌繁殖数与死菌数接近，使活菌数保持相对稳定

④～⑤衰亡期（decline phase）：细菌的繁殖速度从减慢至停止，死菌数迅速超过活菌数。细胞出现多形态的衰退型，菌体变形、肿胀，或自溶

二、微生物细胞的遗传和变异

微生物同其他生物一样，都具有遗传和变异的生命特征。遗传使微生物的性状保持相对稳定，以维持种属的繁衍，而变异则使微生物产生变种和新种，以利于微生物的生存及进化。

（一）遗传

子代与亲代之间在生物学性状上的相似性，称为遗传（heredity）。细胞被视为一个化学机器，能够贮存信息并将其变成适当形式的化学机器，酶是主要的成分，能够催化专一的化学反应；细胞也被视为编码机，以一定编码的方式贮存蛋白序列信息的仓库。在细胞内DNA以两个相互盘绕呈螺旋形的长分子链形式存在（DNA双螺旋），细胞内的遗传信息复制、转录、翻译合成蛋白质（图1-30）。

（二）变异

在一定条件下，若子代与亲代之间出现差异则称为变异（variation），包括形态与结构的变异、毒力变异、耐药性变异等。微生物的变异分为遗传性变异与非遗传性变异。前者是由于细菌的基因结构发生了改变，变异的新性状可稳定地遗传给后代，故又称基因型变异，其变异多为不可逆的（图1-31）；后者是细菌在一定的环境条件影响下引起的变异，而细菌的基因结构并未改变，不能遗传给后代，故又称表现型变异。基因型变异受外界环境因素的影响极小，故变异常发生于个别的细菌，表现型变异因受环境因素的影响，故常发生于菌群中所有的细菌，且常因环境中影响因素的去除，其变异的性状又可逆复原。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

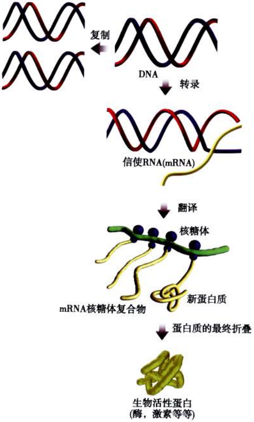


图 1-30　细胞内遗传信息的复制及转录、翻译合成蛋白质过程示例

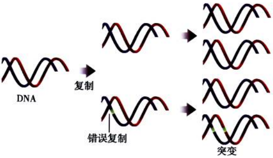


图 1-31　DNA 的突变示例

（三）细菌的遗传物质

核酸是一切生物遗传的物质基础，主要有 DNA 和 RNA 两种类型。原核生物和真核生物等有细胞结构的生物，DNA 是其遗传的基础，而病毒则是 DNA 和 RNA。微生物的遗传物质包括供体菌染色体（chromosome）DNA 片段，质粒（plasmid）、噬菌体（bacteriophage，or phage）和转位因子（transposable element）等。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

噬菌体是感染性细菌、真菌、放线菌、支原体、螺旋体等微生物的病毒，也能给予宿主菌生物学性状遗传物质，因其能使细菌裂解，故称为噬菌体。噬菌体必须在活菌内生存，并有严格的宿主特异性，其特异性与噬菌体的吸附结构和受体菌表面受体分子结构和互补性有关（图 1-32）。

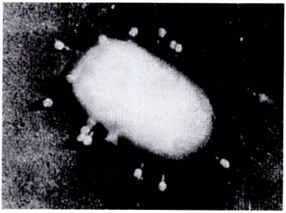


图 1-32 噬菌体吸附于大肠埃希菌

噬菌体个体微小，需用电子显微镜观察。其基本形态有蝌蚪形、微球形和细杆形 3 种。大多数噬菌体呈蝌蚪形，由头部和尾部组成（图 1-33）。

噬菌体与宿主菌之间的关系如图 1-34 所示。

噬菌体感染细菌将产生两种结果：一是噬菌体增殖，产生许多子代噬菌体，并最终使细菌细胞裂解，建立溶菌性周期，这类噬菌体被称为毒（烈）性噬菌体（virulent phage）；二是噬菌体核酸与细菌染色体整合，成为前噬菌体（prophage），细菌变成溶原性细菌（lysogenic bacteria），建立溶菌性周期，这类噬菌体被称为温和噬菌体或溶原性噬菌体（temperate phage）。

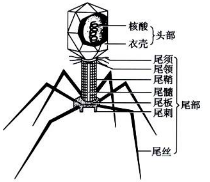


图 1-33 噬菌体结构模式

头部呈球形，为双辐射状的六棱柱体，大小为 80nm×100nm，由外围的蛋白质衣壳与其内部的核酸构成。尾部是一管状结构，由蛋白质组成，包括尾须、尾领、尾髓、尾鞘、尾板、尾刺和尾丝

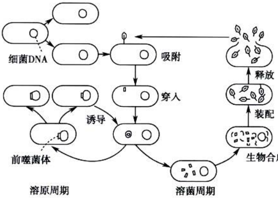


图 1-34 溶原性细菌的溶原周期和溶菌周期

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（四）微生物变异的机制

微生物的遗传性变异是由其基因结构发生改变而引起的突变(mutation)，是稳定且可遗传的变化。广义的突变包括基因突变和染色体畸变。微生物突变的自发性和随机性可以用波动试验(fluctuationtest)或影印培养(replicaplating)来证实(图 1-35、图 1-36)。

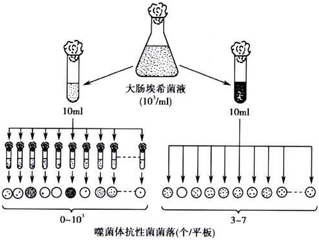


图 1-35　波动试验(Luria 及 Delbruck，1943 年)

试验以细菌对特定噬菌体的抗性突变为例：先将一定数量(10^3/ml)对特定噬菌体敏感的大肠埃希菌分别接种于两份相等体积(10ml)的肉汤培养基中，一份集中在大试管内，另一份再均匀地分至 50 只小试管内。同等条件下经 24～36h 培养后，分别将大试管和小试管内的细菌培养液涂布于含有噬菌体的平板上，测定噬菌体抗性菌的菌落数。结果发现，从同一大试管中取出菌液涂布的 50 个平板，各平板上耐药性菌生长的菌落数(3～7 个)波动范围很小；而从 50 只小试管内取出的菌液涂布相应的 50 个平板，结果各平板上噬菌体耐药菌菌落数量极不均匀，有的可达上百个，有的甚至为 0。

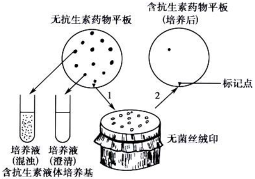


图 1-36　影印培养(Lederberg 等，1952 年)

先将敏感菌点种在不含抗生素类药物的琼脂平板上，待长出分散的单个菌落后，取一块包有无菌丝绒的压模，在琼脂平板表面轻轻按印，使压模丝绒表面粘有细菌菌落印迹，再将此菌落印迹按印到一个含有抗生素类药物的琼脂平板上。经培养后，敏感菌完全被抑制，但可

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

见平板上耐药菌落的位置，可在原无抗生素药物的平板上找出与耐药菌落相应的菌落，将此相应菌落移种至含抗生素药物的肉汤中，可见细菌生长。琼脂平板上原菌落的细菌从未接触过抗生素药物，但已对抗生素药物具有耐药性。

（五）基因的转移与重组

微生物除发生基因突变外，在某种情况下还可以发生基因转移，即外源性的遗传物质由供体菌转入某受体菌细胞内的过程。但仅有基因的转移还不够，受体菌必须能容纳外源性基因。转移的基因与受体菌 DNA 整合在一起称为重组，使受体菌获得供体菌的某些特性。细菌的基因转移和重组可通过转化、接合、转导、溶原性转换和细胞融合等方式进行。

1. 转化（transformation）　是供体菌裂解产生的游离的 DNA 片段被受体菌直接摄取，从而使受体菌获得了供体菌的部分遗传性状。在转化过程中，转化的 DNA 片段称为转化因子（transformation）。转化现象在肺炎链球菌、葡萄球菌和流感嗜血菌等细菌中被证实，1928 年，Griffith 用在小鼠体内进行肺炎链球菌的转化试验，见图 1-37。

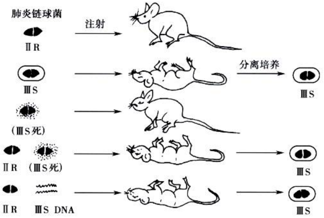


图 1-37　小鼠体内肺炎链球菌的转化试验

有荚膜的肺炎链球菌为III型，属光滑（S）型菌落，IIIS 型菌有毒力；无荚膜的肺炎链球菌为 II 型，属粗糙（R）型菌落，IIR 型菌无毒力。将IIR 型菌和IIIS 型菌分别注射给小鼠，前者存活，后者死亡，并从死鼠心血中分离到IIIS 型菌。将IIIS 型菌杀死后再注射小鼠，则小鼠存活。但将杀死的IIIS 型菌与活的IIR 型混合后给小鼠注射，则小鼠死亡，并从死鼠心血中分离出活的IIIS 型菌。这表明活的IIR 型菌从死的IIIS 型菌中获得了产生IIIS 型菌荚膜的遗传物质，使活的IIR 型菌转化为IIIS 型菌

2. 接合（conjugation）　是细菌通过性菌毛相互连接沟通，将遗传物质（主要是质粒 DNA）从供体菌转移给受体菌，使后者获得前者的部分遗传性状。能通过接合方式转移的质粒称为接合性质粒，主要包括 F 质粒、R 质粒、Col 质粒和毒力质粒等。F 质粒编码性菌毛，控制着性菌毛的生成以及自身接合转移的能力（图 1-38）。

不能通过性菌毛在细菌之间转移的质粒称为非接合性质粒。非接合性质粒 ColE1 的相对分子质量较低，不足以编码转移体系所需要的基因，因而不能自我结合传递。但如果在宿主细胞内存在着接合性质粒，那么它们也可以被诱动传递。编码性菌毛的 F 质粒可为 ColE1 提供它所缺乏的接合功能（图 1-39）。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

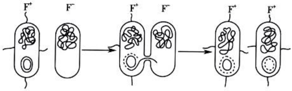


图 1-38　接合时 F 质粒的转移与复制

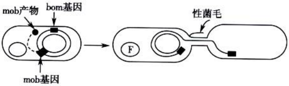


图 1-39　大肠菌素非接合性质粒被 F 质粒诱动传递

带有 F 质粒的细菌有性菌毛，相当于雄菌（F^+），无性菌毛的无 F 质粒，相当于雌菌（F^-），当 F^+ 与 F^- 菌杂交时，F^+ 菌性菌毛末端与 F^- 菌表面受体接合，性菌毛逐渐缩短使两菌相互靠近并形成通道，F^+ 菌质粒 DNA 中的一条链在转移起始点（oriT）处断开，5′端延伸并通过性菌毛通道进入 F^- 菌内。两菌细胞内的单链 DNA 以滚环方式进行复制，各自形成完整的 F 质粒。因此，转移结束后供体菌并未失去 F 质粒，而受体菌获得 F 质粒后即长出性菌毛，成为 F^+ 菌。

质粒 ColE1 从供体菌被诱动传递给受体菌的过程，需要其自身的两种基因参与：位于 ColE1DNA 上的特异位点 bom（也称 nic 位点）和 *mob*A 基因编码的核酸酶。当相容性的两种质粒 F 和 ColE1 共存于同一细菌细胞时，ColE1 质粒的 *mob* 基因进行转录，其产物使 bom 位点发生单链断裂而出现缺口，于是 ColE1 的构型由超螺旋型转变为缺口开环型

接合广泛存在于革兰阴性菌中，几乎包括了所有的肠杆菌科细菌。在某些革兰阳性细菌（如链球菌、枯草芽胞杆菌）以及链霉菌中也有接合的报道。

3. 转导（transduction）　是以温和噬菌体为媒介，将供体菌的一段 DNA 转移到受体菌内，使其获得新的性状，转导比转化可转移更大片段的 DNA。根据转导基因片段的范围，转导可分为普遍性转导（generalized transduction）和局限性转导（restricted transduction），详见图 1-40 和图 1-41。

普遍性转导也能转导质粒，金黄色葡萄球菌中 R 质粒的转导在医学上具有重要意义。

普遍性转导被包装的 DNA 可以是供体菌染色体上的任何部分。当细菌溶原状态终止时，前噬菌体从溶原性细菌染色体上脱离，进入溶菌期。在溶菌期后期，噬菌体的 DNA 已大量复制，进行装配时，在 10^5～10^7 次装配中会发生一次装配错误，

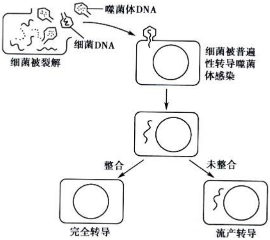


图 1-40　普遍性转导模式

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

误将细菌 DNA 片段装入噬菌体的头部，成为一个转导噬菌体。转导噬菌体能以正常方式感染另一宿主菌，并将其头部的 DNA 片段注入受体菌内。

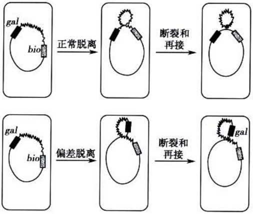


图 1-41 局限性转导模式

局限性转导或称特异性转导，所转导的只限于供体菌染色体上个别特定的基因。如 λ 噬菌体进入大肠埃希菌 K12，当其处于溶原期时，噬菌体 DNA 整合在大肠埃希菌染色体的特定部位，即在半乳糖基因（*gal*）和生物素基因（*bio*）之间。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

第二章

微生物种群

口腔微生物包括细菌(bacteria)、真菌(fungi)、支原体(mycoplasma)、原虫(protozoa)和病毒(virus)等。其中,细菌是口腔内数量最多、种类最复杂的微生物,而真菌、病毒、支原体的数量和种类均明显低于细菌。目前已报道的口腔细菌有700多种。按革兰染色性质可将其分为革兰阳性菌和革兰阴性菌;按其形态可分为球菌、杆菌、弯曲杆菌和螺旋体;根据其对氧的耐受性又可分为需氧菌、兼性厌氧菌、微需氧菌和专性厌氧菌。

第一节 革兰阳性球菌

一、葡萄球菌属

葡萄球菌属(*Staphylococcus*)细菌是一群革兰阳性球菌,广泛分布于自然界。该菌属细菌属于微球菌科。早期临床分类共包括3个种:金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌。20世纪80年代初期,研究者们根据其生化反应能力,如是否发酵甘露醇和有无血浆凝固酶,将其分为致病性和非致病性葡萄球菌。《伯杰系统细菌学手册》根据新的化学分类法,即细胞壁成分和核酸分析,将葡萄球菌属细菌分为4个群39个种。

葡萄球菌属细菌的细胞呈球形,直径0.5~1.5μm;排列呈单个、成对或四联状,但以不规则的葡萄状多见;无鞭毛,无运动性;革兰染色呈阳性。细胞壁含肽聚糖和磷壁酸。

除解糖葡萄球菌为厌氧菌外,其他葡萄球菌均为兼性厌氧菌。生长温度为18~40℃。大多数葡萄球菌能在含10% NaCl的培养基中生长。

葡萄球菌属的G+C摩尔分数为30%~39%[热变性温度(*Tm*法)或浮力密度(Bd法)测定]。

葡萄球菌属的模式种为金黄色葡萄球菌。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频,微信公众号里搜索qzkqsp1(茄子口腔视频1首字母)即可关注

（一）金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）

革兰阳性球菌，肽聚糖类型是 *L*-Lys-Gly5～6，细胞壁磷壁酸成分是核糖醇。菌细胞特征见图 2-1 和图 2-2。

兼性厌氧菌，在有氧条件下生长良好。在巯基乙醇酸盐半固体培养基中生长迅速，并呈均匀致密的生长。在含 10%NaCl 的培养基中生长。在葡萄糖肉汤培养液中的最终 pH 值为 4.3～4.6。菌落特点见图 2-3、图 2-4 和图 2-5。

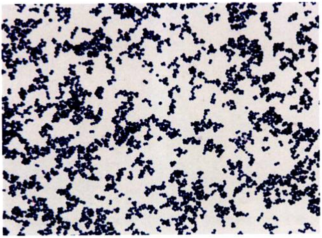


图 2-1　金黄色葡萄球菌细胞（革兰染色）

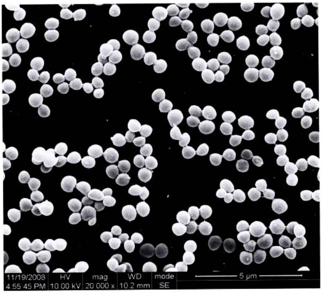


图 2-2　金黄色葡萄球菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
金黄色葡萄球菌细胞为球形，直径 0.5～1.0μm；单个、成对或葡萄状排列，革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

可引起颌面部的疖痈、疏松结缔组织炎及肿瘤术后伤口感染等。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 32%～36%（*Tm* 法或 Bd 法）。模式株为 ATCC12600（NCTC8352 及 CCM885）。



图 2-3　金黄色葡萄球菌的金黄色菌落（普通琼脂培养基）

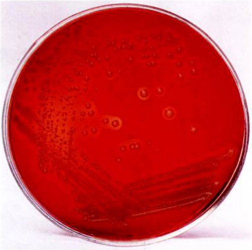


图 2-4　金黄色葡萄球菌产生 β 溶血环菌落（BHI 血琼脂）

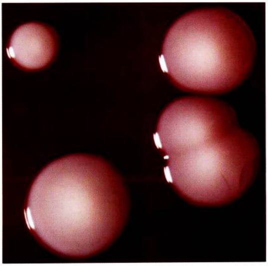


图 2-5　金黄色葡萄球菌菌落（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×15）
金黄色葡萄球菌在普通琼脂培养基上形成直径为 2～8mm、圆形、凸起、有光泽、半透明、表面光滑、边缘整齐的菌落，菌落的色素多变，微黄色或橙黄色均可见，典型菌落产生金黄色色素，在含血琼脂上产生透明的 β 溶血环

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（二）表皮葡萄球菌（*Staphylococcus epidermidis*）

革兰阳性球菌，肽聚糖类型是 *L*-Lys-Gly4-5，*L*-Ser0.7-1.5。细胞壁磷壁酸成分是甘油、葡萄糖和 N- 乙酰葡糖胺。菌细胞特征见图 2-6 和图 2-7。

兼性厌氧菌，培养特性与金黄色葡萄球菌相似，在有氧条件下生长良好。在含 10% NaCl 的培养基中生长差。菌落特点见图 2-8 和图 2-9。

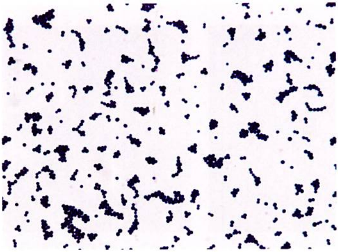


图 2-6　表皮葡萄球菌细胞（革兰染色）

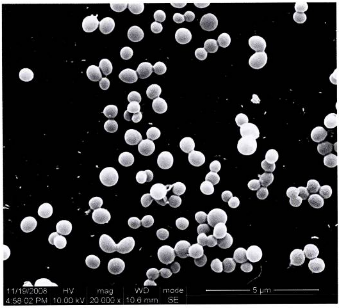


图 2-7　表皮葡萄球菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
表皮葡萄球菌细胞为球形，直径 0.5～1.5μm；成对和四联状排列多见，偶见单个细胞，革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

表皮葡萄球菌主要定居在人的皮肤，是近年来医院感染中讨论最多的细菌之一。该菌在正常口腔的唾液和菌斑中常常被检出，可参与口腔牙周炎、急性和慢性牙髓炎、冠周炎、拔牙创干槽症、口角炎等混合菌感染。表皮葡萄球菌的大多数菌株对新生霉素敏感，其最低抑菌浓度（MIC）≤0.2mg/L。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 30%～37%（*Tm* 法或 Bd 法）。模式株为 ATCC14990。



图 2-8　表皮葡萄球菌菌落（普通琼脂）

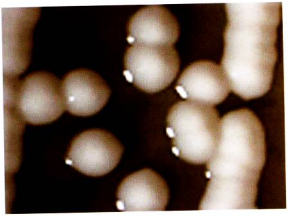


图 2-9　表皮葡萄球菌菌落（体视显微镜 ×15）

表皮葡萄球菌在琼脂表面通常形成直径 2.5～2.6mm、圆形、凸起、灰白色、有光泽，边缘整齐的菌落。产生黏液的菌株，在琼脂表面则形成半透明的黏稠菌落

二、链 球 菌 属

链球菌属（*Streptococcus*）细菌是口腔的优势菌群，也是最常见的革兰阳性兼性厌氧球菌，因呈链状排列得名。临床细菌学根据溶血现象将此菌属细菌分为三大类：甲型溶血性链球菌（又称 α- 溶血性链球菌或草绿色链球菌）、乙型溶血性链球菌（又称 β- 溶血性链球菌）和丙型溶血性链球菌群（又称 γ 溶血或不溶血链球菌群）。在 2004 年版的《伯杰系统细菌学手册》中，链球菌属的菌种已达 89 个种（但在新的分类研究中，有 10 多个种的分类位置发生了变动）。

口腔最常见的链球菌是唾液链球菌（*S. salivarius*）、血链球菌（*S. sanguinis*）、变异链球菌（*S. mutans*）、表兄链球菌（*S. sobrinus*）、口腔链球菌（*S. oralis*）、缓症链球菌（*S. mitis*）、格氏链球菌（*S. gordonii*）等。

（一）唾液链球菌（*Streptococcus salivarius*）

唾液链球菌是革兰阳性球菌（图 2-10 和图 2-11），大多数菌株系兰斯菲尔德 K 群链球菌。

兼性厌氧菌，最适宜的大气条件为补充 5%～10% CO_2 的微氧条件。适宜的生长温度是 37℃，在 45℃条件下可生长。生长要求营养丰富的复合培养基，TS 琼脂和 TPY 琼脂是常用的培养基。MS 琼脂是常用的选择培养基。在葡萄糖肉汤中的最终 pH 值可达 4.0～4.4。菌落特点见图 2-12、图 2-13、图 2-14 和图 2-15。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

生化反应 可发酵葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、棉子糖、菊粉、水杨素、海藻糖和乳糖产酸，不发酵甘油、甘露醇、山梨醇、木糖和阿拉伯糖。大多数菌株可水解七叶苷和尿素，但不水解精氨酸。同时，大多数菌株产生三羟基丁酮。



图 2-10 唾液链球菌细胞（革兰染色）

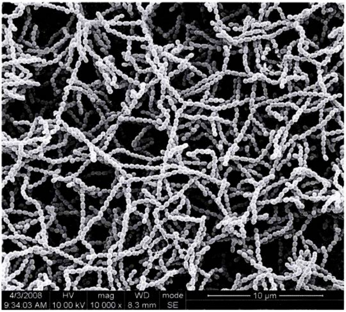


图 2-11 唾液链球菌细胞（扫描电镜，×10 000）
唾液链球菌细胞是大的球形或卵圆形细胞，直径 0.8～1.0μm，排列呈长链状或短链，革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-12　唾液链球菌的饭团样菌落（MS 琼脂）



图 2-13　唾液链球菌菌落（BHI 血琼脂）

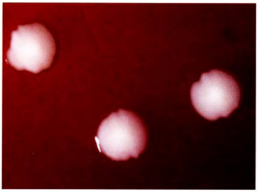


图 2-14　唾液链球菌菌落（体视显微镜 ×15）

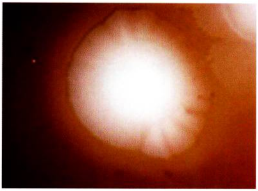


图 2-15　临床唾液样本中分离的唾液链球菌菌落（体视显微镜 ×30）

唾液链球菌的大多数分离物产生可溶性果聚糖，在蔗糖琼脂表面形成较大的有鉴定特征的饭团样粘性大菌落。因合成细胞外多糖不同，可形成光滑型或粗糙型菌落，粗糙型的变异株在肉汤培养物中特别多见。在血琼脂上不产生溶血环，仅极少数菌株在含淀粉和马血琼脂上产生 α- 或 β- 溶血反应

定植特性　唾液链球菌主要从人和动物的口腔中检出，是舌面和唾液的正常菌群成分之一。该菌还可从粪便、心内膜炎患者的血液中分离到。悉生鼠实验表明，一些唾液链球菌菌株有致龋性。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 39%～42%。模式株为 ATCC7073。

（二）血链球菌（*Streptococcus sanguis*）

革兰阳性球菌（图 2-16 和图 2-17），大多数菌株系兰斯菲尔德 H 群链球菌。

兼性厌氧菌，生长要求补充 5%～10% 的 CO_2。最适生长温度为 37℃，在 45℃的条件下

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

生长不定。生长要求营养丰富的复合培养基，TS 琼脂和 TPY 琼脂是常用的培养基。菌落特点见图 2-18、图 2-19 和图 2-20。

发酵葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、水杨素和海藻糖产酸，发酵菊粉和棉子糖产酸则不定。一般不发酵木糖、阿拉伯糖、甘油、甘露醇，偶有发酵山梨醇的菌株。水解精氨酸产氨和产生 H_2O_2 可鉴别于变异链球菌。50% 以上的菌株可水解七叶苷。葡萄糖肉汤培养物最终 pH 值是 4.6～5.2。

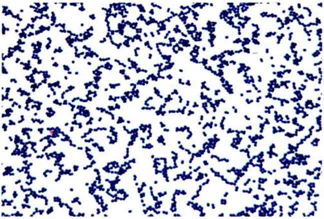


图 2-16　血链球菌细胞（革兰染色）

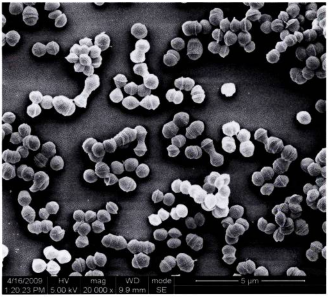


图 2-17　血链球菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

血链球菌细胞为球形或卵圆形，偶见杆状或多形性，直径 0.8～1.2μm，排列呈中到长链状。革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

牙菌斑的主要菌群成分，只能从萌牙后的口腔中检出，因产生对氨基苯甲酸（PABA），被认为是变异链球菌定植生长的助生菌；因产生 H_2O_2，血链素等抗菌物质，被认为是口腔生态系的重要的生理菌和牙周有益菌。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 40%～46.4%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC10556（NCTC7863）。



图 2-18　血链球菌菌落（BHI 血琼脂）



图 2-19　血链球菌光滑型菌落（MS 琼脂）

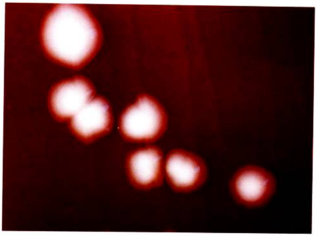


图 2-20　血链球菌菌落（体视显微镜 ×15）

血链球菌在血琼脂上形成直径 0.7～1.0mm 的光滑型或粗糙型菌落。大多数菌株产生 α- 溶血环，尤其是在有氧培养时多见，亦有产生 β- 溶血环的菌株。大多数菌株产生细胞外多糖，在菌落顶部或周围可见水滴样的多糖物。在含高浓度蔗糖的琼脂培养基表面，产生多糖的菌株形成粘性的、并可侵蚀菌落周围琼脂的硬的粗糙型或呈毛玻璃样的菌落；在不含或含低浓度蔗糖的琼脂培养基表面，形成圆形、软的光滑型菌落

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

(三)格氏链球菌(*Streptococcus gordoniii*)

革兰阳性球菌(图 2-21、图 2-22 和图 2-23),细胞壁成分是甘油磷壁酸和鼠李糖,肽聚糖类型是 Lys-Ala。原为血链球菌血清Ⅱ型,不产生触酶,有 3 个生物型。与血链球菌的主要区别是缺乏 IgA1 蛋白酶。

兼性厌氧菌。培养特性与血链球菌相同,菌落特点见图 2-24、图 2-25 和图 2-26。

主要栖息地是人口腔和咽部。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 40%~43%。模式株为 ATCC10558(即 NCTC7865)。

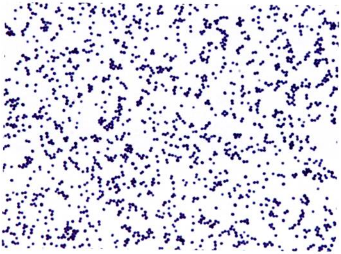


图 2-21 格氏链球菌球状细胞(革兰染色)

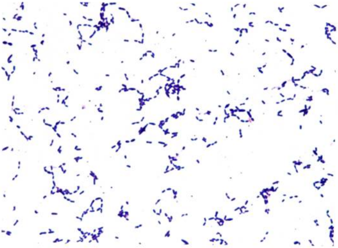


图 2-22 格氏链球菌矛尖状细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频,微信公众号里搜索qzkqsp1(茄子口腔视频1首字母)即可关注

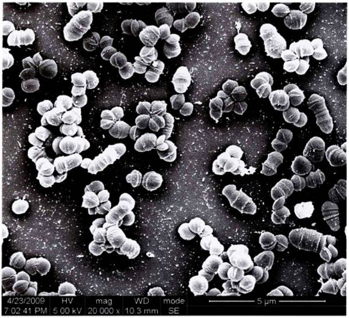


图 2-23　格氏链球菌细胞(扫描电镜 ×20 000)

格氏链球菌菌细胞为球形或矛尖状，肉汤培养细胞为短链状排列，无芽胞、无动力。革兰染色阳性。扫描电镜下可见细胞二分裂增殖



图 2-24　格氏链球菌 α 溶血菌落(BHI 血琼脂)

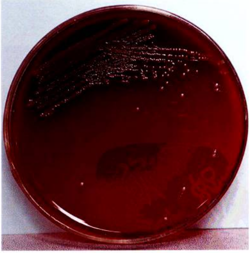


图 2-25　格氏链球菌 γ 溶血菌落(BHI 血琼脂)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

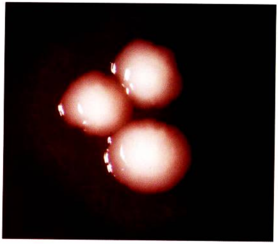


图 2-26　格氏链球菌菌落(体视显微镜 ×15)
格氏链球菌的菌落特点与血链球菌相似，在血琼脂上产生 α- 溶血环或 γ 溶血环，在巧克力琼脂上产生绿色溶血环

（四）变异链球菌(*Streptococcus mutans*)

变异链球菌和表兄链球菌、大鼠链球菌(*S. rattus*)、野鼠链球菌(*S. ferus*)、仓鼠链球菌(*S. cricetus*)、猕猴链球菌(*S. macacae*)，统称为变异链球菌群(*Mutans streptococci*)，这些菌种原为变异链球菌的血清型 a、b、c、d、e、f、g、h 型细菌。

革兰阳性球菌(图 2-27、图 2-28、图 2-29、图 2-30 和图 2-31)。

兼性厌氧菌，在含 5%～10% CO_2 的微氧和厌氧条件下生长最好。最适生长温度是 37℃，部分菌株可在 45℃条件下生长。生长要求营养丰富的复合培养基，TS 琼脂和 TPY 琼脂是常用的培养基，MSB 琼脂是常用的选择培养基。在含葡萄糖的肉汤中最终 pH 值为 4.0～4.3。菌落特点见图 2-32、图 2-33、图 2-34 和图 2-35。

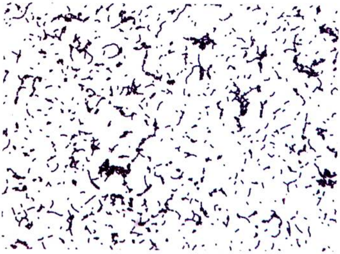


图 2-27　变异链球菌细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

生化反应大多数菌株可发酵甘露醇、山梨醇、棉子糖、乳糖、菊粉、水杨素、甘露糖和海藻糖产酸，不发酵阿拉伯糖、木糖、甘油和松三糖，水解七叶苷，不水解精氨酸、马尿酸和明胶，亦不产生 H_2O_2。

主要定植在人的牙面。从蔗糖产生多种细胞外多糖，包括水溶性和非水溶性的葡聚糖和果聚糖，这些多糖不仅对于该菌在牙面的定植很重要，而且是重要的致龋因子。因其有强的粘附力，产酸性和耐酸及产生水不溶性葡聚糖等致病因子被共认为口腔的主要致龋菌。其易位生长可导致菌血症、心内膜炎等继发性感染。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 36%～38%。模式株为 ATCC25175。

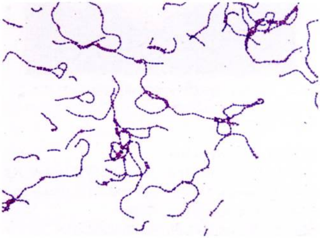


图 2-28　变异链球菌液体培养物长链细胞（革兰染色）



图 2-29　变异链球菌短链细胞（扫描电镜 ×20 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-30　变异链球菌长链细胞（扫描电镜 ×20 000）

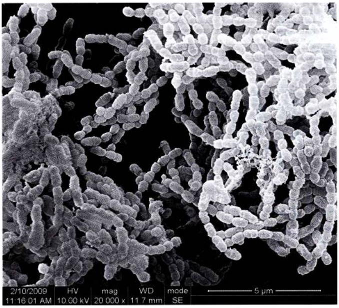


图 2-31　变异链球菌自凝细胞（扫描电镜 ×20 000）

变异链球菌细胞为球形细胞，直径 0.5～0.75μm，成对或链状排列。肉汤培养物可形成长链状细胞，并可见典型的自凝细胞。在酸性肉汤和固体培养基中可形成长 0.5～1.0μm 的短杆菌。无荚膜。革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-32　变异链球菌菌落（BHI 血琼脂）

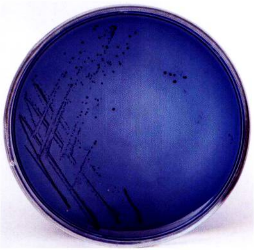


图 2-33　变异链球菌菌落（MS 琼脂）

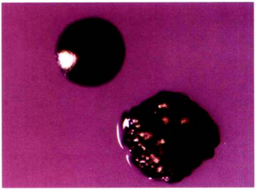


图 2-34　变异链球菌光滑型和粗糙型菌落（MS 琼脂，体视显微镜 ×15）

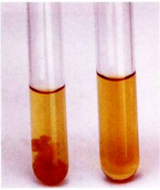


图 2-35　变异链球菌液体培养物（TPY 液体培养基）

变异链球菌在血琼脂平皿上的 48h 厌氧培养物，形成直径为 0.5～1.0mm、规则的光滑型菌落或不规则的、硬而粘附的菌落。通常产生 α- 或 γ- 溶血反应，偶尔产生 β- 溶血反应。在含蔗糖的琼脂上，大多数菌株产生直径约 1mm 的堆积状菌落，在菌落顶部或周围常见水滴样或黏液样的葡聚糖产物。光滑型和粗糙型菌落可存在于同一琼脂表面。肉汤培养物呈团块状沉淀生长或贴附于试管底部生长

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（五）表兄链球菌（*Streptococcus sobrinus*）

表兄链球菌原为变异链球菌的血清型 d 型和 g 型，因与变异链球菌之间有密切的亲缘关系而得名，又名亲缘链球菌或远缘链球菌。革兰阳性球菌（图 2-36 和图 2-37）。

培养特性与变异链球菌相同，菌落特点见图 2-38、图 2-39 和图 2-40。

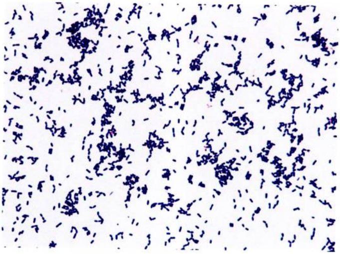


图 2-36 表兄链球菌细胞（革兰染色）

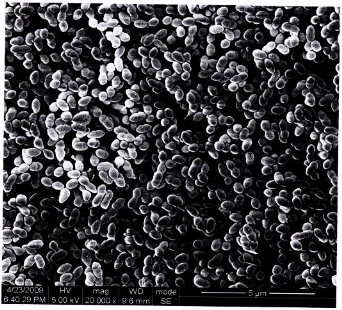


图 2-37 表兄链球菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

表兄链球菌细胞呈球形，直径约 0.5μm，成对或链状排列，长链状常见。革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

发酵甘露醇、菊粉和乳糖产酸，但对山梨醇、密二糖和棉子糖的发酵反应不定。大多数菌株可产生 H_2O_2，不从精氨酸产氨，不水解七叶苷，亦不合成明显量的细胞外多糖。

主要栖息地是人的牙面，具有的致龋性仅次于变异链球菌。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 44%～46%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC33478（SL）。



图 2-38　表兄链球菌菌落（TPY 琼脂）



图 2-39　表兄链球菌菌落（BHI 血琼脂）

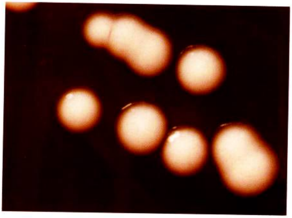


图 2-40　表兄链球菌的 α- 溶血菌落（体视显微镜 ×15）

表兄链球菌在蔗糖琼脂表面形成直径为 1mm、呈堆积状的粗糙型菌落，在菌落顶部或周围可见水滴样的葡聚糖产物。在 TPY 琼脂和 BHI 血琼脂上形成光滑的粘性菌落。仅部分菌株产生 α- 溶血反应。

（六）缓症链球菌（*Streptococcus mitis*）

革兰阳性球菌（图 2-40）。

在 45℃条件下生长不定，其葡萄糖肉汤培养物的最终 pH 值为 4.2～5.8。菌落特点见图 2-41、图 2-42 和图 2-43 和图 2-44。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

可发酵葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖和水杨素产酸，偶尔亦有菌株发酵棉子糖和海藻糖产酸，但均不发酵菊粉、甘露醇、山梨醇、甘油、阿拉伯糖和木糖。

定植特性　该菌可从人的唾液、口腔黏膜、痰液和粪便中检出，是口腔常见的链球菌和正常菌群成员之一。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 38%～39%。模式株为 NS51（NCTC 12261）。

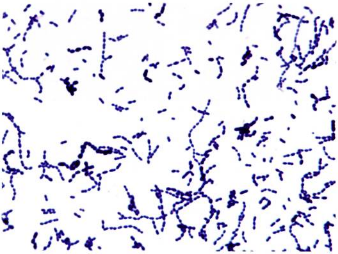


图 2-41　缓症链球菌细胞（革兰染色）

缓症链球菌细胞为球形或椭圆形，直径 0.6～0.8μm，其肉汤培养物为长链。革兰染色阳性



图 2-42　缓症链球菌菌落（TPY 琼脂）



图 2-43　缓症链球菌光滑菌落（BHI 血琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

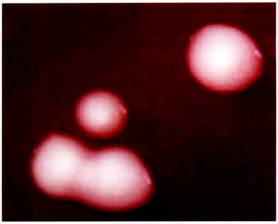


图 2-44 缓症链球菌 α- 溶血菌落(体视显微镜 ×15)
缓症链球菌需氧孵育的培养物为光滑型或粗糙型。肉汤培养物经次代培养后常常由粗糙型变为光滑型。TPY 琼脂是常用的培养基。在血琼脂表面可产生明显的 α- 溶血反应。在蔗糖琼脂上形成较小的碎玻璃样菌落，极少数的菌株可产生典型的粘性菌落

(七) 口腔链球菌(*Streptococcus oralis*)

革兰阳性球菌(图 2-45)。

兼性厌氧菌。在含 0.0004% 结晶紫的培养基中可生长，TPY 琼脂是常用的培养基。菌落特征见图 2-46、图 2-47 和图 2-48。

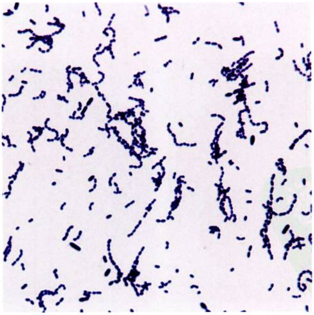


图 2-45 口腔链球菌细胞(革兰染色阳性球菌)
口腔链球菌菌细胞为球形，无荚膜、无动力、无芽胞，呈短链状排列，革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

发酵代谢型，可还原连四硫酸盐（tetrathionate），但不产生触酶。生化反应不活泼。
口腔链球菌主要分离自人的口腔，是口腔的正常菌群成员。
DNA 的 G+C 摩尔分数为 39%～42%（*Tm* 法）。模式株为 NCTC11427（LUG1、PB182）。



图 2-46　口腔链球菌菌落（TPY 琼脂）



图 2-47　口腔链球菌 α- 溶血菌落（BHI 血琼脂）

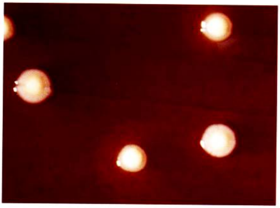


图 2-48　口腔链球菌菌落（体视显微镜 ×15）
口腔链球菌在血琼脂上的菌落为略凸起。表面光滑、白色、圆形，可产生 α- 溶血反应

（八）酿脓链球菌（*Streptococcus pyogenes*）

革兰阳性化脓性溶血性链球菌，兰斯菲尔德 A 群链球菌。菌细胞特点见图 2-49 和图 2-50。

兼性厌氧菌，适宜的生长温度是 37℃。血液和血清均可促进其生成。该菌对营养的要求较高，菌落见图 2-51、图 2-52、图 2-53 和图 2-54。

可产生与致病性有关的毒性因子，如细菌素、溶血素 O、链激酶、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

酶、透明质酸酶和 M 蛋白抗原。在口腔的主要栖息地是牙菌斑，咽部及上呼吸道。临床样本来自皮肤损伤处、炎性分泌物、血液。在口腔临床多见于颌面部疏松结缔组织炎，牙髓炎及拔牙后感染。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 34.5%～38.5%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC12344。

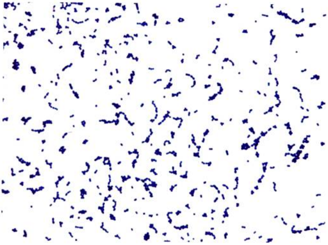


图 2-49　酿脓链球菌细胞（革兰染色）

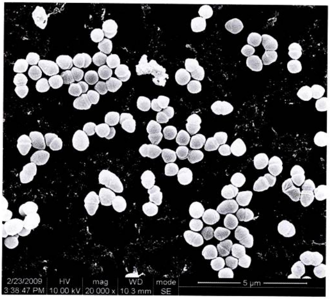


图 2-50　酿脓链球菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
酿脓链球菌菌细胞一般为球形细胞，陈旧培养物可见卵圆形；直径 0.5～1.0μm；细胞排列常呈短链或中长链状，肉汤培养物多为长链。临床标本的分离物一般成对排列。革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-51　酿脓链球菌菌落（MS 琼脂）

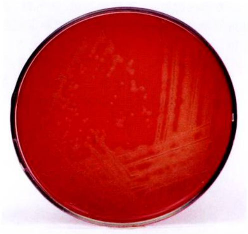


图 2-52　酿脓链球菌 β 溶血菌落（BHI 血琼脂）

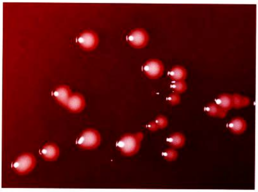


图 2-53　酿脓链球菌黏液样菌落
（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×15）

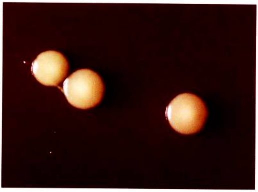


图 2-54　酿脓链球菌无光泽菌落
（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×15）

酿脓链球菌在 MS 琼脂上形成细小的菌落，而过夜生长的血琼脂平皿培养物有三种菌落类型：①形成 β- 溶血环的菌落；②黏液样的菌落；③无光泽的菌落。菌落类型与生长条件和透明质酸酶的产生有关

（九）肺炎链球菌（*Streptococcus pneumonia*）

革兰染色阳性球菌，是上呼吸道的重要病原菌，菌细胞特点见图 2-55、图 2-56、图 2-57。兼性厌氧菌，在有氧条件下可大量地积累 H_2O_2。培养物要求高营养的复合培养基，包括血液、血清或腹水，以及维生素 B 属等，与其他链球菌比较，肺炎链球菌的分离鉴定培养要求补充胆汁（或胆盐）。在含葡萄糖的肉汤中最终 pH 值为 5.0。菌落特性见图 2-58、图 2-59 和图 2-60。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

发酵代谢型，可发酵葡萄糖、半乳糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、棉子糖和菊粉产酸，部分菌株可发酵甘露醇，但不发酵卫矛醇和山梨醇。胆汁溶菌试验为阳性，有助于与其他链球菌区别。

主要定植于正常人和家畜的上呼吸道，可从扁桃体炎、肺炎、脑膜炎和中耳炎的临床标本中检出，在口腔的定植分布及致病性尚不清楚。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 30%（*Tm* 法）或 42%（Bd 法）。模式株为 NCTC7465。

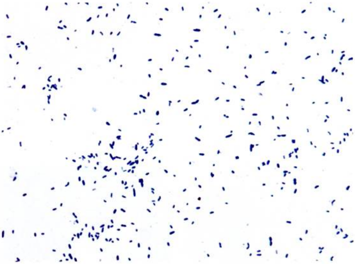


图 2-55　肺炎链球菌矛尖状细胞（革兰染色）

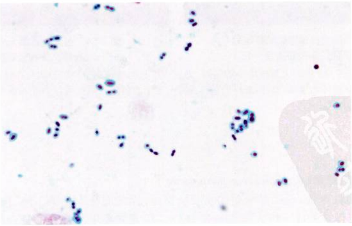


图 2-56　肺炎链球菌细胞的荚膜（荚膜染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-57　肺炎链球菌细胞(扫描电镜 ×10 000)

肺炎链球菌细胞为卵圆形或球形，直径为 0.5～1.25μm。菌细胞多成对排列，偶见单个或短链，典型的细胞为成对的矛尖状细胞，连续多次培养后，菌细胞易成链状排列。革兰染色阳性，老龄菌细胞呈现革兰阴性。荚膜染色可见细胞外的荚膜

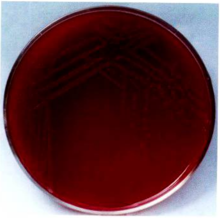


图 2-58　肺炎链球菌菌落(BHI 血琼脂)

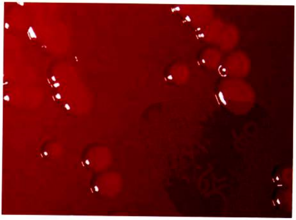


图 2-59　肺炎链球菌的粘性菌落
(BHI 血琼脂，体视显微镜 ×15)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

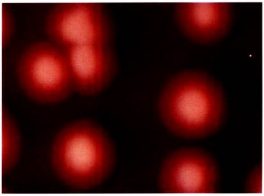


图 2-60 肺炎链球菌粗糙型菌落(体视显微镜 ×15)

肺炎链球菌在 BHI 血琼脂上生长良好，光滑型菌落为屋顶状、闪光的菌落；粗糙型菌落为皱褶的类似菌丝体的菌落。肺炎链球菌可合成大量的荚膜多糖类物质，而形成粘性菌落，这种荚膜多糖是肺炎链球菌的型别特异性抗原和毒性因子（简称 SSS）

(十) 前庭链球菌(*Streptococcus vestibularis*)

前庭链球菌因首先分离自人口腔的前庭部位而得名。

革兰染色阳性球菌(图 2-61 和图 2-62)。

兼性厌氧菌。最适生长温度为 37℃，在 10℃和 45℃条件下生长。除模式菌株 MM 外，大多数菌株在含 10% 胆汁的培养基中可生长。在含 4% NaCl 或 0.0004% 结晶紫或 40% 胆汁的培养基中均不生长。菌落特点见图 2-63 和图 2-64。

发酵 N- 乙酰葡萄糖、杨梅苷、果糖、半乳糖、葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露糖、水杨素和蔗糖产酸；不发酵阿东糖醇、阿拉伯糖、糊精、卫矛醇、墨角藻糖、甘油、糖原、肌醇、菊粉、甘露醇、松三糖、密二糖、棉子糖、核糖醇、山梨醇、淀粉及木糖；大多数菌株可发酵纤维二糖和苦杏仁苷产酸；少数菌株可发酵海藻糖和 D- 葡萄糖胺产酸。可产生脲酶和 H_2O_2。大多数菌株可产生三羟基丁酮、水解七叶苷和淀粉。该菌不产生细胞内外多糖，亦不从精氨酸产氨。

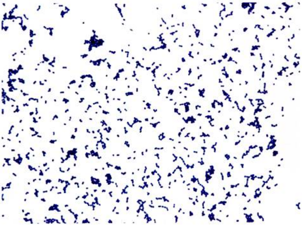


图 2-61 前庭链球菌细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

主要分离自人口腔黏膜及前庭部位。

DNA 的 G+C 含量 38～40mol%。模式株 NCTC12166（=MM_1）

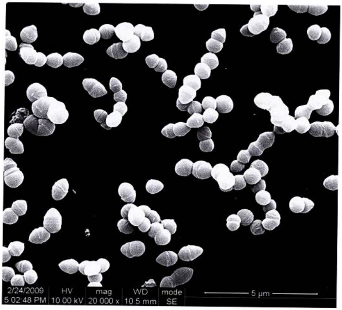


图 2-62　前庭链球菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

前庭链球菌细胞为球形，直径约 1μm，呈链状排列，革兰染色阳性

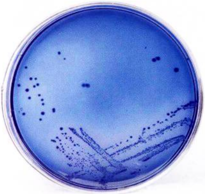


图 2-63　前庭链球菌菌落（MS 琼脂，厌氧培养 48h）



图 2-64　前庭链球菌 α- 溶血菌落（体视显微镜 ×15）

前庭链球菌在 MS 琼脂表面形成直径 2～3mm、脐状、蓝黑色、无光泽、有波浪形边缘的菌落。在有氧培养的 MS 琼脂表面则形成直径 1～2mm、凸起、蓝黑色、有光泽、边缘整齐的菌落在马血琼脂上产生 α- 溶血反应

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

※. 临床上根据是否产生溶血，将链球菌属分为三大类：甲型溶血性链球菌（α-hemolytic *streptococcus*）、乙型溶血性链球菌（β-hemolytic *streptococcus*）和丙型溶血性链球菌（γ-hemolytic *streptococcus*）。

1. 甲型溶血性链球菌　甲型溶血性链球菌草绿色链球菌包括所有产生草绿色溶血环的链球菌菌种，如血链球菌、缓症链球菌、前庭链球菌等口腔链球菌群细菌。

革兰阳性球菌（图 2-65 和图 2-66）。

兼性厌氧菌，培养要求参见其他口腔链球菌群细菌，菌落特点见图 2-67 和图 2-68。

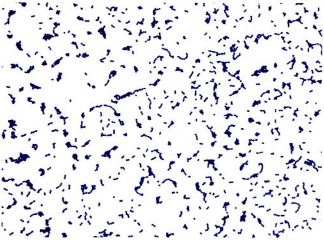


图 2-65　甲型溶血性链球菌细胞（革兰染色）

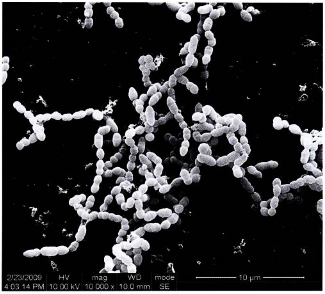


图 2-66　甲型溶血性链球菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

甲型溶血性链球菌细胞为圆形，多排列成对或短链状，革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-67　甲型溶血性链球菌菌落（BHI 血琼脂）

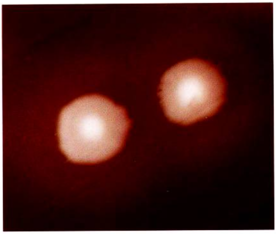


图 2-68　甲型溶血性链球菌菌落（体视显微镜 ×15）

甲型溶血性链球菌在血琼脂上的菌落与肺炎链球菌菌落相似。产生 α- 溶血反应，为一狭窄的草绿色溶血环

2．乙型溶血性链球菌　乙型溶血性链球菌又称化脓性溶血性链球菌（*Pyogenic hemolytic streptococcus*），包括所有产生 β- 溶血环的链球菌菌种，如酿脓链球菌、无乳链球菌（*S. agalactiae*）等，可引起颌面部的蜂窝组织炎、急性扁桃体炎、牙周脓肿等多种口腔感染性疾病。

革兰阳性球菌，菌细胞特征见图 2-69 和图 2-70。

兼性厌氧菌。培养要求参见酿脓链球菌，菌落特征见图 2-71 和图 2-72。

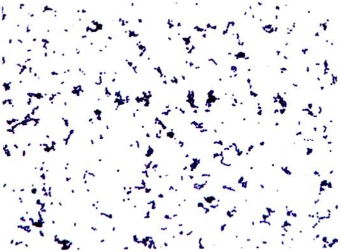


图 2-69　乙型溶血性链球菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

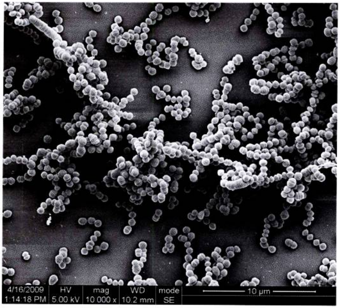


图 2-70　乙型溶血性链球菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

乙型溶血性链球菌细胞为圆形，大多数细胞排列成短链状，液体培养物多为长链状细胞。无动力。革兰染色阳性



图 2-71　乙型溶血性链球菌的 β- 溶血菌落（BHI 血琼脂）

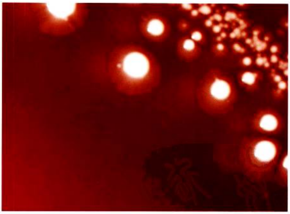


图 2-72　乙型溶血性链球菌菌落（体视显微镜 ×15）

乙型溶血性链球菌在血琼脂培养基上的菌落较小，产生 β- 溶血反应，在菌落周围形成较宽的，完全透明的溶血环（溶血环中红细胞完全溶解）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

三、肠球菌属

肠球菌属(*Enterococcus*)是兼性厌氧的革兰阳性球菌，兰斯菲尔德 D 群。肠球菌属最常见的菌种是粪肠球菌(*E. faecalis*)，又名粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)，因其在复发性口腔感染根管中有高检出率受到关注。

粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)

革兰阳性球菌，菌细胞特点见图 2-73 和图 2-74。

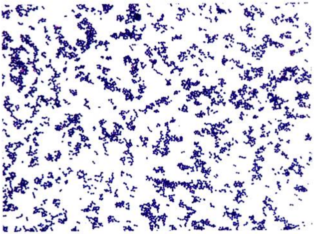


图 2-73　粪肠球菌细胞(革兰染色)



图 2-74　粪肠球菌细胞(扫描电镜 ×20 000)

粪肠球菌菌细胞为卵圆形，直径约 0.5～1.0μm，大多数细胞排列成对或短链状，无动力，革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

兼性厌氧菌。在普通营养琼脂上生长良好，菌落特点见图 2-75、图 2-76 和图 2-77。发酵大多数碳水化合物，发酵葡萄糖的主要酸产物是乳酸。水解精氨酸产氨。DNA 的 G+C 摩尔分数为 33.5%。模式株 NCTC775（ATCC19433、NCDO5681）。



图 2-75　粪肠球菌菌落（普通营养琼脂）



图 2-76　粪肠球菌菌落（PSE 琼脂）

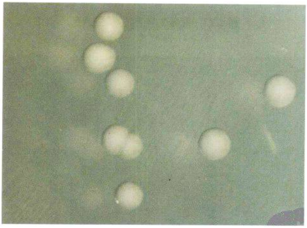


图 2-77　粪肠球菌菌落（体视显微镜 ×15）
粪肠球菌在普通营养琼脂培养基上形成光滑、不透明的白色或奶油色的球形菌落；在含有胆盐、七叶苷和叠氮钠的 PSE 琼脂（Pfizer 肠球菌选择琼脂培养基）上形成有棕色晕环的棕黑色菌落可区别于其他菌种

四、消化链球菌属

消化链球菌属（*Peptostreptococcus*）细菌是人口腔和临床最多见的革兰阳性厌氧球菌，常见的菌种是厌氧消化链球菌（*P. anaerobius*）和微小消化链球菌（*P. micros*）。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

厌氧消化链球菌（*Peptostreptococcus anaerobius*）

革兰阳性球菌，菌细胞特点见图 2-78 和图 2-79。

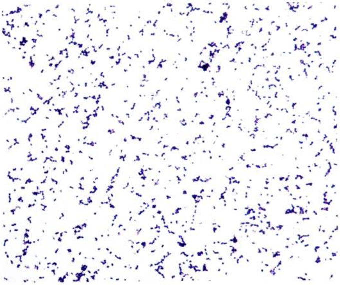


图 2-78　厌氧消化链球菌细胞（革兰染色）



图 2-79　厌氧消化链球菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

厌氧消化链球菌菌细胞为球形，直径 0.5～0.6μm，成对或链状排列，幼龄培养物可见很长的链。革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

专性厌氧菌，适当生长温度为 37℃。0.02% 聚山梨酯 -80 可刺激其生长。菌落特点见图 2-80 和图 2-81。

生化性状不活泼，一般不发酵碳水化合物，其模式株在蛋白胨酵母提取物葡萄糖（PYG）液体培养基中的主要终末酸产物有乙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和异己酸。在厌氧条件下，该菌可从丙酮酸盐产生 CO_2 和 H_2。在葡萄糖琼脂深层，该菌可产生中等到大量的气体，且从蛋白胨产氨。

在口腔的主要栖息地是牙菌斑及龈沟。在牙周炎、牙髓炎和冠周炎等口腔临床标本中常检出。

厌氧消化链球菌 DNA 的 G+C 摩尔分数为 33%～34%。模式株为 ATCC27337。



图 2-80　厌氧消化链球菌菌落（BHI 血琼脂）

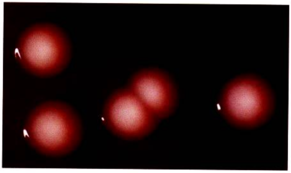


图 2-81　厌氧消化链球菌菌落（体视显微镜 ×15）

厌氧消化链球菌在血琼脂表面形成针尖到直径 1.0 mm、圆形、凸起、白色、有光泽、不透明、表面光滑的菌落，不产生溶血环。在未加血的牛心脑浸汁补充培养基表面的菌落为灰色。其肉汤培养物一般不混浊，可见颗粒状或黏滞的沉淀

第二节　革兰阴性球菌

一、奈瑟菌属

奈瑟菌属（*Neisseria*）细菌是一种需氧的革兰阴性双球菌，属于奈瑟球菌科。口腔、鼻咽部是其主要的定植部位。大多数奈瑟菌都是人体内正常菌群成员，一般无致病性。脑膜炎奈瑟菌（*N. meningitidis*）和淋病奈瑟菌（*N. gonorrhoeae*）是人重要的病原菌。

口腔中常见的奈瑟菌是干燥奈瑟菌（*N. sicca*），其次是微黄奈瑟菌（*N. subflava*）。

奈瑟菌为需氧菌，营养要求不高，在普通琼脂培养基上均可生长。大多数奈瑟菌细胞为球形，偶有短杆状，直径 0.6～1.0μm，多成对排列，相邻面呈扁平状。可有荚膜和菌毛，但无内生芽胞和鞭毛。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

脑膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitides*)

又称脑膜炎球菌(*meningococcus*)，是流行性脑脊髓膜炎的病原菌。

革兰阴性球菌(图 2-82 和图 2-83)。需氧菌，在含有 5%～8% CO_2 的大气条件下生长更佳。要求在含有血清或血液的营养琼脂中生长，菌落见图 2-84、图 2-85 和图 2-86。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 50%～52%(*Tm*)。模式株为 ATCC13077。

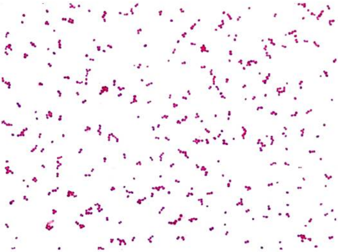


图 2-82　脑膜炎奈瑟菌细胞(革兰染色)

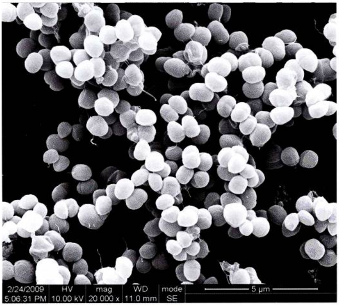


图 2-83　脑膜炎奈瑟菌细胞(扫描电镜 ×20 000)
脑膜炎奈瑟菌细胞为卵圆形或球形，肾形或豆形的双球菌，革兰染色阴性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-84 脑膜炎奈瑟菌菌落(BHI 血琼脂)



图 2-85 脑膜炎奈瑟菌菌落(BHI 巧克力琼脂)

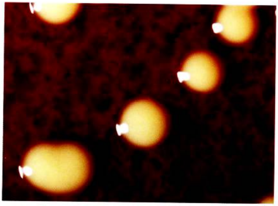


图 2-86 脑膜炎奈瑟菌菌落(体视显微镜 ×15)
脑膜炎奈瑟菌菌落大小与培养基有关,在营养丰富的血琼脂表面,培养18～24h 的菌落直径可达 1.0～1.5mm,圆形、光滑、透明,似露滴样,不产生溶血反应。在巧克力血琼脂上生长尤佳

二、莫拉菌属

莫拉菌属(*Moraxella*)与奈瑟菌属、金氏菌属(*Kingella*)同属奈瑟菌科(*Neisseriaceae*)。

黏膜炎莫拉菌(*Moraxella catarrhalis*)

黏膜炎莫拉菌(*Moraxella catarrhalis*),又名卡他(布兰汉)莫拉菌(*Moraxella Branhamella catarrhalis*)是莫拉菌属在口腔的常见菌种,曾命名为卡他奈瑟菌(*N. catarrhalis*,卡他球菌)、卡他布兰汉菌(*Branhamella catarrhalis*)。

革兰阳性球菌,菌细胞特点见图 2-87 和图 2-88。

需氧菌,在普通琼脂生长,血琼脂上生长更好,菌落特点见图 2-89 和图 2-90。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

上呼吸道是主要的栖息地，一般不致病但可引起卡他性炎症，如急性咽喉炎和中耳炎。DNA 的 G+C 摩尔分数为 40%～43%。模式株为 ATCC25238（NCTC11020）。



图 2-87　黏膜炎莫拉菌细胞（革兰染色）

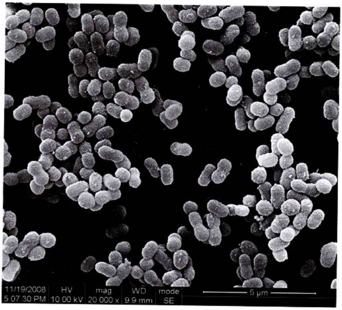


图 2-88　黏膜炎莫拉菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
黏膜炎莫拉菌细胞为球形或短杆状，典型细胞为肾形，临床标本的菌细胞多为肾形双球菌，无芽胞、无动力，革兰染色阴性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-89　黏膜炎莫拉菌菌落(BHI 血琼脂)

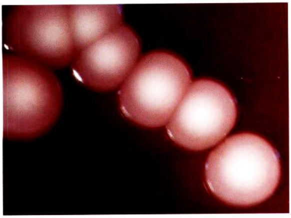


图 2-90　黏膜炎莫拉菌菌落(体视显微镜 ×15)

黏膜炎莫拉菌在血琼脂表面培养 48h 后，形成直径约 2mm、光滑、不透明的、较扁的灰白色菌落

三、韦荣菌属

韦荣菌属(*Veillonella*)细菌是革兰阴性厌氧球菌，属韦荣菌科。口腔中检出的菌种有小韦荣菌(*V. parvula*)、非典型韦荣菌(*V. atypic*)和殊异韦荣菌(*V. dispar*)。

小韦荣菌(*Veillonella parvula* subsp. *parvula*)

小韦荣菌是口腔最常见的菌种。革兰阴性球菌，菌细胞特点见图 2-91 和图 2-92。

专性厌氧菌，有部分菌株生长要求腐胺和尸胺，菌落特点见图 2-93 和图 2-94。

生化性状不活泼，不发酵碳水化合物产酸，不产生吲哚，触酶试验阴性，可还原硝酸盐为亚硝酸盐。

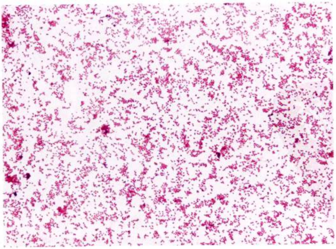


图 2-91　小韦荣菌细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

可从唾液、舌面、牙菌斑等标本中检出。小韦荣氏球菌可利用变异链球菌产生的乳酸，而被认为是牙菌斑中的有益菌，也是人肠道的正常菌群成员之一。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 38%（*Tm* 法）或 41%（Bd 法）。模式株为 ATCC10790。

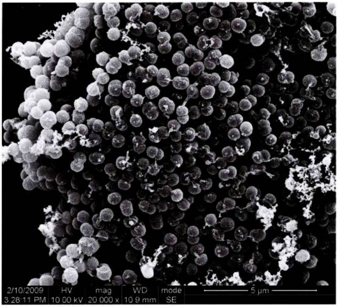


图 2-92　小韦荣菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

小韦荣菌球形菌细胞，常成堆或成团块排列。革兰染色阴性，但幼龄培养物常染成革兰阳性



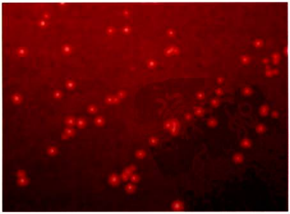


图 2-93　小韦荣菌菌落（BHI 血琼脂）　　图 2-94　小韦荣菌菌落（体视显微镜 ×15）

小韦荣菌要求严格厌氧条件，在 BHI 血琼脂表面形成小的灰白色菌落

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

第三节　革兰阳性兼性厌氧杆菌

一、罗斯菌属

罗斯菌属(*Rothia*)是革兰阳性的无芽胞的兼性厌氧杆菌。龋齿罗斯菌(*R. dentocariose*)是罗斯菌属的模式种。

龋齿罗斯菌(*Rothia dentocariose*)

龋齿罗斯菌为革兰阳性无芽胞的杆菌菌细胞特点见图 2-95 和图 2-96。



图 2-95　龋齿罗斯菌细胞(革兰染色)

菌细胞可为球形、类白喉棒杆菌形态或丝状体，但多以混合形式存在，革兰染色为阳性。细胞直径一般为 1.0μm，不规则的、膨大的棒状末端直径可达 5.0μm。固体培养基上的培养物多为丝状体，而肉汤培养物则以球形多见。孵育 2～3d 的陈旧肉汤培养物可能完全为球菌，但此球菌形态易改变。无芽胞、无荚膜、无动力、不耐酸。扫描电镜下的菌细胞见图 2-96。

兼性厌氧菌。在有氧环境下生长良好，部分菌株的初代培养要求在厌氧条件下(80% 的 N_2，10% 的 H_2 及 10% 的 CO_2)孵育。适宜的生长温度是 35～37℃。在厌氧条件下生长 18～24h 的幼龄菌落常为丝状微菌落，亦可见蜘蛛状菌落。在有氧条件下生长的幼龄菌直径约 1mm。菌落表面光滑或呈颗粒状，常常可见伞状边缘。孵育 2d 的成熟菌落为直径 2～6mm，乳白色、有光泽的光滑型菌落(图 2-96)在同一琼脂平板中可同时存在光滑型和粗糙型菌落，亦可出现疏松、易碎或粘性的菌落，少数粗糙型菌落呈明显的干燥的盘卷状。菌落特点见图 2-97 和图 2-98。

在 PYG 肉汤中主要的酸产物是乳酸，不产生丙酸。

可发酵葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、海藻糖、果糖和水杨素产酸。触酶试验阳性，不产生吲哚，可还原硝酸盐和亚硝酸盐，水解七叶苷、淀粉和酪蛋白，水解明胶不定。脲酶试验为阴性，该菌在三糖铁琼脂上可产生 H_2S。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

可从人的口腔中检出，主要定植于唾液和龈上菌斑，是人口腔的正常菌群成员，与口腔感染性疾病的关系尚未证实。作为条件致病菌已从心内膜炎和其他临床感染标本中检出。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 47%～57%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC17931。



图 2-96　龋齿罗斯菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

菌细胞可为球形、类白喉棒杆菌形态或丝状体，但多以混合形式存在，细胞直径一般为 1.0μm，不规则的、膨大的棒状末端直径可达 5.0μm。固体培养基上的培养物多为丝状体，而肉汤培养物则以球形多见。革兰染色为阳性

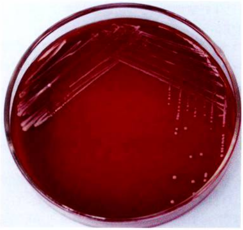


图 2-97　龋齿罗斯菌菌落（BHI 血琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

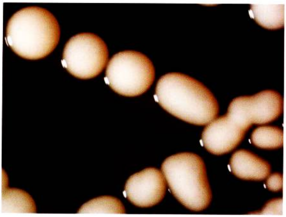


图 2-98　龋齿罗斯菌菌落（体视显微镜 ×15）

龋齿罗斯菌在有氧条件生长的幼龄菌落直径约 1mm，菌落表面光滑或呈颗粒状，常常见伞状边缘。孵育 2 天的成熟菌落直径 2～6mm，乳白色、光泽、光滑的菌落；在同一平板上可同时出现粗糙型和光滑型菌落，或疏松易碎或粘性的菌落，少数粗糙型菌落呈明显的盘卷状。在厌氧条件生长 18～24h 的幼龄菌落多为丝状微菌落，或为蜘蛛样菌落

二、放 线 菌 属

放线菌属（*Actinomyces*）是革兰阳性不规则的杆菌，也是口腔最常见的革兰阳性厌氧杆菌。放线菌在早期被列入真菌类或被称为“其他微生物”，后期的大量研究证明，放线菌具有一般细菌的特性为原核细胞生物。在 1984 年版的《伯杰氏系统细菌学手册》中，放线菌属被列入革兰阳性无芽胞的不规则杆菌中。口腔中常见的放线菌有衣氏放线菌（*A. iseralii*）、内氏放线菌（*A. naeslundii*）、龋齿放线菌（*A. odontolyticus*）、粘性放线菌（*A. viscosus*）。

菌细胞的形状和大小变化较大，常为分支状的不规则杆菌，直径约 0.2～1.0μm，长 5.0～10μm。末端可呈棒状，偶见球杆状细胞；排列不规则、单个、成对、链状、簇状、栅栏状等；无动力、无芽胞，亦不产生分生孢子。

细胞壁不含二氨基庚二酸（DAP）和甘氨酸是该菌属细菌的重要鉴别特征。

各菌种间对氧的敏感程度存在差异，但初代培养均要求在厌氧环境中生长。

在孵育 18～24h 后的琼脂表面可形成具有分支菌丝体或蜘蛛状的微菌落，这种典型的蛛网型菌落常有助于鉴别。

所有放线菌种均发酵葡萄糖、果糖产酸，但不产气。棉子糖、木糖、纤维二糖、苦杏仁苷，核糖、水杨素的发酵类型以及触酶的产生，硝酸盐和亚硝酸盐还原试验，是否水解尿素或明胶有助于菌种之间的鉴别。

口腔正常菌群的成员，牙菌斑的优势菌。衣氏放线菌、内氏放线菌、粘性放线菌和龋齿放线菌，可从人的牙菌斑、牙石和唾液中检出，迈氏放线菌主要定植在龈沟内。临床和流行病学的调查表明，衣氏放线菌可引起面颈部、肺部和腹部的放线菌病、结膜炎、泪管炎等疾患；内氏放线菌和迈氏放线菌常常从龈炎、牙周炎、牙髓根尖周感染、冠周炎的临床材料中检出；粘性放线菌被认为是可疑致龋菌。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

DNA 的 G+C 摩尔分数为 57%～69%（*Tm* 法）。模式种为牛型放线菌（*A. bovis*）。

（一）衣氏放线菌（*Actinomyces israelii*）

革兰阳性不规则杆菌（图 2-99、图 2-100 和图 2-101）。

生长要求 CO_2，在普通大气环境中生长差或不生长。4% 或 6% 的 NaCl，20% 的胆汁或 0.005% 的结晶紫均可抑制该菌生长。菌落的特征见图 2-102、图 2-103 和图 2-104。

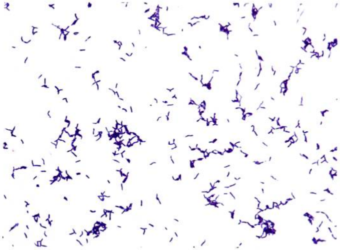


图 2-99 衣氏放线菌细胞（革兰染色）

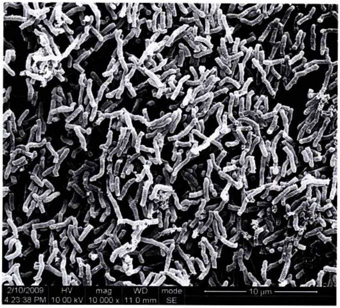


图 2-100 衣氏放线菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

口腔是衣氏放线菌的主要栖息地。衣氏放线菌常定植于扁桃体和牙菌斑，亦可从人的肠道和女性生殖道中检出。该菌为面颈部、胸部和腹部放线菌病的主要致病菌，亦可致泪管、泪囊、结膜感染。在口腔混合感染如龈炎、牙周炎、冠周炎中可检出，但致病性不清楚。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 57%～65%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC12102（WVU46，CDCX523，W855）。

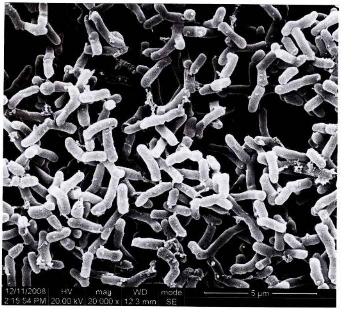


图 2-101　衣氏放线菌的分支状细胞（扫描电镜 ×20 000）

衣氏放线菌细胞以不规则的分支杆状和短丝状多见，无芽胞。革兰染色阳性



图 2-102　衣氏放线菌菌落（BHI 血琼脂）

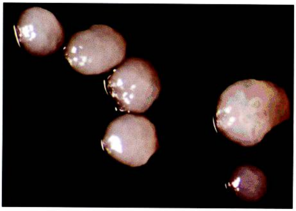


图 2-103　衣氏放线菌的臼齿状菌落（体视显微镜 ×15）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

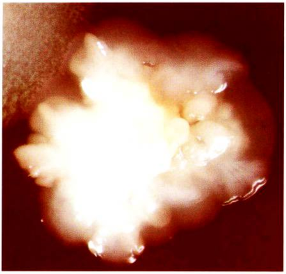


图 2-104　牙菌斑样本中分离的衣氏放线菌菌落（体视显微镜 ×15）
衣氏放线菌幼龄菌落为典型的丝状微菌落。成熟菌落的特征为直径小于 2mm、凸起、白色、不透明，典型特征为臼齿形。在血琼脂表面无 β 溶血反应

（二）内氏放线菌（*Actinomyces naeslundii*）

革兰阳性不规则杆菌见图 2-105 和图 2-106。

在未补充 CO_2 的有氧环境下生长不定，但在无 CO_2 的厌氧环境中能生长。部分菌株可在 45℃条件下生长。6% 的 NaCl 可抑制其生长。菌落特点见图 2-107、图 2-108，肉汤培养物见图 2-109。

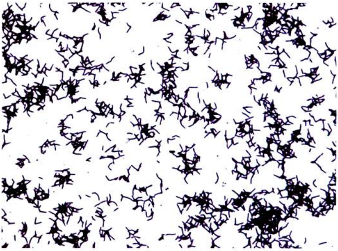


图 2-105　内氏放线菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

内氏放线菌是人类口腔包括扁桃体和牙菌斑的正常菌群成员。可参与混合菌感染，是根面龋的致病菌之一，在牙周炎或感染根管的临床标本中亦常检出，其致病性不清楚。该菌可导致面颈部、胸部和腹部放线菌病，以及眼部、女性生殖道感染和膝关节积脓。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 63%～69%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC12104（NCTC10301，WVU45，CDCX454）。

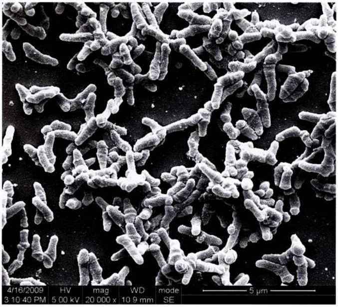


图 2-106　内氏放线菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

内氏放线菌细胞以不规则的分支杆状和短丝状多见，无芽胞。革兰染色阳性



图 2-107　内氏放线菌菌落（BHI 血琼脂）



图 2-108　内氏放线菌菌落（体视显微镜 ×15）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-109 内氏放线菌液体培养物(BHI 肉汤)

内氏放线菌的幼龄菌落可形成丝状微菌落。成熟菌落凸起或扁平，无中心凹陷，粗糙或光滑型菌落均可见。在血琼脂表面无溶血反应。肉汤培养物呈贴管壁混浊生长

(三) 龋齿放线菌(*Actinomyces odontolyticus*)

又称溶牙放线菌，革兰阳性不规则的杆菌(图 2-110 和图 2-111)。

在厌氧环境下需补充 CO_2 才能生长，含 5%～20% 的胆汁及 0.005% 的结晶紫均可抑制该菌生长。菌落特征见图 2-112、图 2-113 和图 2-114。

牙菌斑和牙结石是主要栖息地。常引起眼部感染，偶见于进展性放线菌病，与牙周病和龋齿的关系尚待进一步证实。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 62%(*Tm* 法)。模式株为 ATCC17929(NCTC9935，WVU867，CDCX363)。

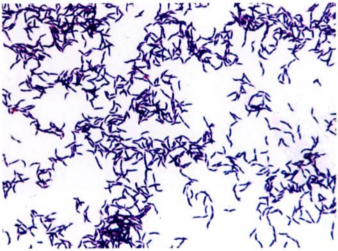


图 2-110 龋齿放线菌细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

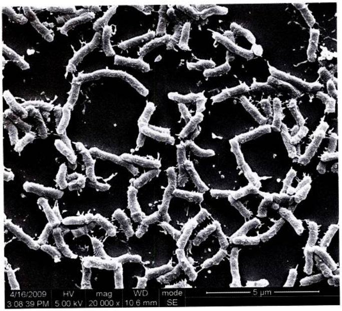


图 2-111 龋齿放线菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
龋齿放线菌细胞多为不规则的杆状，亦可见球杆状、分支杆状或丝状，革兰染色阳性



图 2-112 龋齿放线菌菌落（BHI 血琼脂）

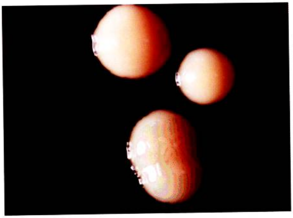


图 2-113 龋齿放线菌的红色菌落（体视显微镜 ×15）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

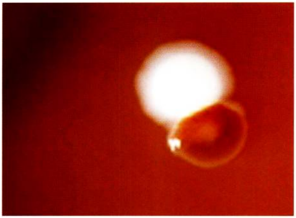


图 2-114　牙菌斑中的龋齿放线菌菌落（体视显微镜 ×30）
龋齿放线菌可产生丝状微菌落，在 BHI 琼脂表面的成熟菌落直径小于或等于 2mm、白色或灰白色、不透明、无中心凹陷和丝状边缘，其重要鉴别特性是：在厌氧孵育的血琼脂表面菌落，在孵育 2 天后可变为深红色，室温放置后会更清楚

（四）粘性放线菌（*Actinomyces viscosus*）

革兰阳性不规则杆菌（图 2-115、图 2-116 和图 2-117）。

初代培养物在厌氧环境中生长，CO_2 可刺激其生长。次代培养物可在普通大气环境中生长。部分菌株在 45℃条件下生长。菌落特征见图 2-118 和图 2-119。

人和温血动物的口腔，包括龈下菌斑、龈缘菌斑、牙石是其主要的定植部位。粘性放线菌是根面龋的致龋菌，与根尖周感染、泪管炎、腹部和面颈部的放线菌病等有关。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 59%～70%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC15987（WVU745，CDCX603，A828）。

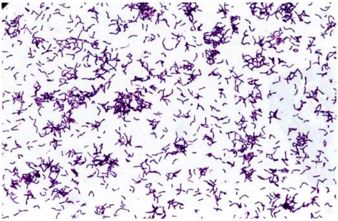


图 2-115　粘性放线菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-116　粘性放线菌细胞（扫描电镜 ×10 000）



图 2-117　粘性放线菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

粘性放线菌细胞以不规则、短到中等长度的杆状多见，亦可见分支杆状或短丝状，无芽胞。革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-118 粘性放线菌菌落（BHI 血琼脂）



图 2-119 粘性放线菌菌落（体视显微镜 ×15）

粘性放线菌可形成丝状微菌落。成熟菌落无中心凹陷，典型菌落是大而粘性的菌落

三、丙酸杆菌属

丙酸杆菌属（*Propionibacterium*）是一群革兰阳性无芽胞的多形态杆菌。按照定植的生态环境可分为两大群：寄居在皮肤，包括肠道和口腔的丙酸杆菌称痤疱群或皮肤丙酸杆菌，寄居在乳制品、乳酪、青饲料等上面的称乳品群或典型丙酸杆菌。

菌细胞呈多形态的杆状，以两端圆或一端圆一端尖细的类白喉棒杆菌样细胞多见，其直径 0.5～0.8μm，长 1～5μm；双歧或分支的杆状；球形细胞多见于陈旧的培养物。细胞排列一般呈单个、成对、链状或呈 Y、V、人字形堆积状排列。革兰染色为阳性，可见革兰染色阴性。

厌氧或微需氧菌。最大生长量通常在孵育 48h 后产生。该菌为化能异养菌，其生长要求复杂的营养基础（如 BHI 琼脂）。大多数菌种能在含 20% 胆汁或 6.5% NaCl 的葡萄糖肉汤中生长。琼脂表面的丙酸杆菌属细菌菌落可产生白色、灰色、粉红色、红色或黄色色素。

PYG 肉汤培养物的主要酸产物为大量的丙酸和乙酸，产生大量的丙酸是该菌属细菌与其他革兰阳性无芽胞厌氧杆菌的重要鉴别特性。通常还有少量的异戊酸、甲酸、琥珀酸和乳酸。

所有菌种均可发酵葡萄糖产酸，触酶试验为阳性。根据是否产生吲哚、还原硝酸盐、水解七叶苷、液化明胶及发酵蔗糖、麦芽糖、甘露醇等生化试验，可区别本属的菌种和其他菌属的部分菌种。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 53%～57%（*Tm* 法）。模式种是费氏丙酸杆菌。

痤疮丙酸杆菌（*Propionibacterium acnes*）

革兰阳性不规则的杆菌见图 2-120、图 2-121 和图 2-122。

厌氧或微需氧菌，初代培养要求低氧化还原电势培养基。菌落特征见图 2-123 和图 2-124。该菌葡萄糖肉汤培养物为混浊或清晰（带有细粒状沉淀）。较陈旧的肉汤培养物常有淡红色的沉淀。PYG 肉汤培养物的最终 pH 值是 4.5～5.0，丙酸和乙酸是主要的代谢酸产物。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

机体的常居菌，个体之间的定植数量差异很大。可分离自普通痤疮的分泌物以及伤口、血液、脓液及肠内容物。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 57%～60%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC6919（NCTC737）。

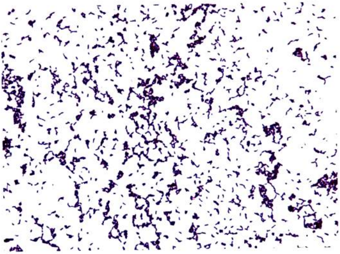


图 2-120　痤疮丙酸杆菌细胞（革兰染色）

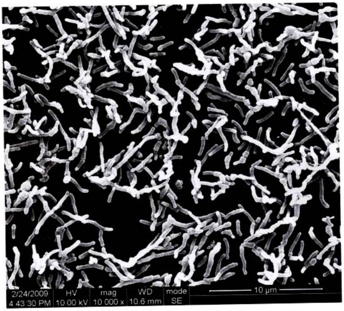


图 2-121　痤疮丙酸杆菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-122 痤疮丙酸杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
痤疮丙酸杆菌细胞呈多形态，以细而长的杆状多见。血清变型Ⅱ型菌细胞则以球形多见，无芽胞。革兰染色阳性，亦可发现革兰阴性染色



图 2-123 痤疮丙酸杆菌菌落（BHI 血琼脂）

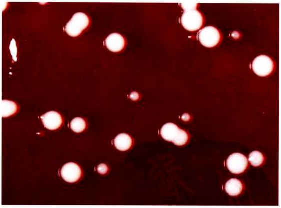


图 2-124 痤疮丙酸杆菌菌落（体视显微镜 ×15）

痤疮丙酸杆菌在马血或兔血琼脂表面孵育 2～3d，形成针尖到直径 0.5mm 大小，白色或灰色、有光泽、半透明或不透明、垫状或边缘整齐的菌落。在兔血琼脂上，68% 的血清变型Ⅰ型菌株产生溶血反应，血清变型Ⅱ型菌株不产生溶血反应

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

四、真杆菌属

真杆菌属（*Eubacterium*）是一群革兰阳性、无芽胞的专性厌氧杆菌。关于该菌属的命名目前尚有争议，Bergey's 系统细菌学手册第二卷（1986）指出，Eu.bac.terxi～um，希腊语前缀 eu- 的意思为好的，有益的、而不是“真假之意”，故笔者认为称“优杆菌”较宜。目前在口腔中检出的菌种主要有不解乳真杆菌（*E. alactolyticum*）、砂真杆菌（*E. saburreum*）、迟缓真杆菌（*E. lentum*）、黏液真杆菌（*E. limosum*）、缠结真杆菌（*E. nodatum*）、短真杆菌（*E. brachy*）和胆怯真杆菌（*E. timidum*）、藏匿真杆菌（*E. saphenus*）和小真杆菌（*E. minutum*）。

菌细胞为均一的或多形态的杆状。无芽胞。革兰染色为阳性，但陈旧的培养物和培养基中已产酸的培养物的革兰染色常为阴性。

专性厌氧菌。对厌氧程度的要求高培养较难，有的菌株只能在预还原的培养基中生长。最适生长温度是 37℃、最适 pH 值为 7.0。

化能异养菌，从碳水化合物或蛋白质产生的混合有机酸主要包括丁酸、乙酸和甲酸。

大多数口腔真杆菌菌种生化性状不活泼。触酶试验多呈阴性。不水解马尿酸盐。是否发酵碳水化合物、产生吲哚、还原硝酸盐和水解七叶苷等生化试验有助于本菌属菌种的鉴别。

主要定植在唾液和菌斑中，为口腔正常菌群成员之一。迟缓真杆菌和黏液真杆菌可从口腔中检出。缠结真杆菌、短真杆菌和胆怯真杆菌、藏匿真杆菌和小真杆菌是从牙周炎患者龈下菌斑中分离的新种，被认为是可疑牙周病原菌。

DNA 的 G+C 含量为 30～55mol%（*Tm*），模式种的 DNA 的 G+C 含量为 47mol%（*Tm*）。

迟缓真杆菌（*Eubacterium lentum*）

1999 年 Kageyama 等将迟缓真杆菌的分类位置变动，命名为新菌属埃氏菌属（*Eggerthella*）的模式种：迟缓埃氏菌（*Eggerthella lenta*）。

革兰阳性不规则的无芽胞的专性厌氧杆菌（图 2-125 和图 2-126）。

专性厌氧菌。大多数菌株在 30℃和 45℃条件下均可生长，部分菌株可在 25℃生长。精氨酸能促进其生长。菌落特征见图 2-127 和图 2-128。

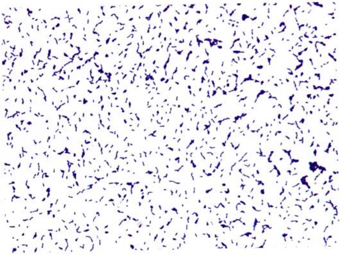


图 2-125　迟缓真杆菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

不发酵碳水化合物。不水解七叶苷、马尿酸盐和明胶。可还原硝酸盐。可从精氨酸产氨，在含 1% 精氨酸的琼脂培养基中分解 H_2O_2。在厌氧条件下，该菌在三糖铁斜面的底部可产生 H_2S，但在 SIM 培养基上不产生 H_2S。

DNA 的 G+C 含量 62%。模式株 JCM 9979（=DSM2243=ATCC 25559=NCTC11813）。

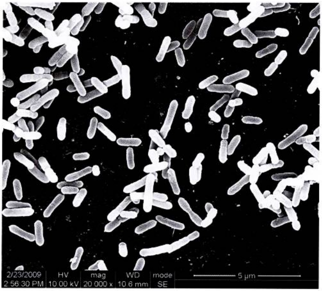


图 2-126 迟缓真杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

PYG 肉汤培养物细胞大小为（0.2～0.4）µm×（0.2～2.0）µm，呈单个、成对或短链排列



图 2-127 迟缓真杆菌菌落（BHI 血琼脂）

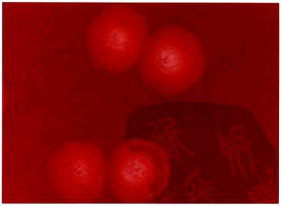


图 2-128 迟缓真杆菌菌落（体视显微镜 ×15）

迟缓真杆菌在马血琼脂表面形成直径 0.5～2mm、圆形、低凸或凸起、暗淡无光或有光泽、半透明或不透明、表面光滑、呈缺楔状或边缘整齐的菌落，用斜射光观察时，可见带斑纹的外观

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

五、双歧杆菌属

双歧杆菌属(*Bifdobacterium*)细菌是一群具有多形态、无动力的革兰阳性无芽胞厌氧杆菌。该菌首先从婴儿粪便中分离到，因其对机体有重要的生理意义而受到关注，主要包括双歧双歧杆菌(*B. bifidum*)、婴儿双歧杆菌(*B. infantis*)、青春双歧杆菌(*B. adolescentis*)和长双歧杆菌(*B. longum*)等。在口腔中分离到的双歧杆菌属细菌主要是齿双歧杆菌(*B. dentium*)、短双歧杆菌(*B. breve*)，其次是殊形双歧杆菌(*B. inopinatum*)和栖牙双歧杆菌(*B. denticolenu*)。

菌细胞形态有短而细、末端尖而不规则的细胞，也有多分支的长细胞和稍分叉的棒状或匙形细胞等。细胞排列呈单个、链状、聚合状、V字型或栅栏状。典型的细胞形态有助于菌种的鉴别，如双歧双歧杆菌的长颈瓶状细胞、星状双歧杆菌的星状排列细胞。革兰染色为阳性。

厌氧菌，大多数菌株在含90%的空气和10%的CO_2条件下不生长。在琼脂平板表面形成凸起、奶油色或白色、有光泽、表面光滑、边缘整齐的黏而软的菌落。

在含葡萄糖的液体培养基中的主要终末酸产物为乙酸和乳酸，尚有少量甲酸和琥珀酸，不产生丁酸和丙酸，亦不产生CO_2(葡萄糖酸盐降解除外)。

可发酵碳水化合物产酸，一般不还原硝酸盐，不产生脲酶，触酶试验为阴性。

DNA的G+C摩尔分数为55%～67%(*Tm*法或Bd法)。模式种为双歧双歧杆菌。

(一) 齿双歧杆菌(*Bifidobacterium dentium*)

最初从脓液标中分离并命名为阑尾炎双歧杆菌，后来的研究者将从成人龋齿、粪便、阴道分离的类似菌株命名为埃氏放线菌或划入青春双歧杆菌，进一步的研究表明，这些菌株构成了独立的DNA同源群，在20世纪70年代将其命名为齿双歧杆菌。

革兰阳性不规则的杆菌(图2-129)。

厌氧菌。部分菌株仅在有CO_2存在时耐氧。该菌最适生长温度为37～41℃，最适pH值为6.5～7.0。加有新霉素、卡那霉素和多种盐溶液的TPY培养基是常用的分离选择培养基。菌落特征见图2-130、图2-131和图2-132。

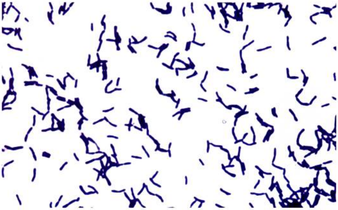


图2-129 齿双歧杆菌细胞(革兰染色)

齿双歧杆菌在TPY琼脂上的培养物一般为多形态的杆状细胞，无芽胞、无动力，革兰染色为阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

生化反应活泼，可发酵 *D*- 核糖、*L*- 阿拉伯糖、乳糖、蔗糖、纤维二糖、海藻糖、棉子糖、密二糖、甘露醇、水杨素、淀粉、半乳糖、麦芽糖、果糖、木糖、甘露糖和葡萄糖产酸，不发酵山梨醇和菊粉；不还原硝酸盐；脲酶试验和触酶试验均阴性。

该菌在口腔的分布及其致病机制等更详细的病原学证据尚不清楚。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 61%（*Tm* 法）。模式株为 ATCC27534（参考株为 B764）。



图 2-130　齿双歧杆菌菌落（BHI 血琼脂）

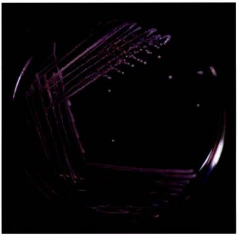


图 2-131　齿双歧杆菌菌落（双歧杆菌选择琼脂）

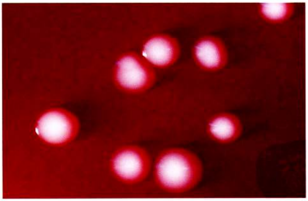


图 2-132　齿双歧杆菌菌落（体视显微镜 ×15）

齿双歧杆菌在 BHI 血琼脂平板和双歧杆菌分离选择培养基表面形成球形、有光泽、表面光滑、凸起的灰白色的黏软菌落

（二）短双歧杆菌（*Bifidobacterium breve*）

革兰阳性不规则的杆菌（图 2-133、图 2-134 和图 2-135）。

厌氧菌。培养特性参见齿双歧杆菌，菌落特点见图 2-136 和图 2-137。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

发酵 *D*- 核糖、乳糖和棉子糖，不发酵 *L*- 阿拉伯糖和淀粉。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 58%（*Tm* 法）。模式株：ATCC15700。

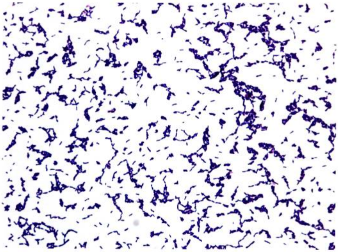


图 2-133　短双歧杆菌细胞（革兰染色）

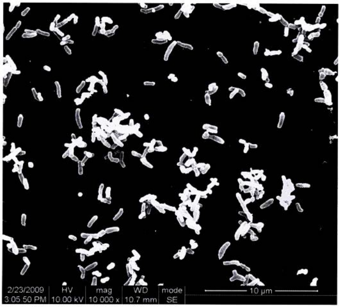


图 2-134　短双歧杆菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-135　短双歧杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

短双歧杆菌菌细胞是细而短的杆菌。无芽胞、无动力，革兰染色为阳性



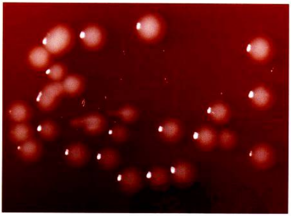


图 2-136　短双歧杆菌菌落（BHI 血琼脂）　　**图 2-137　短双歧杆菌菌落（体视显微镜 ×15）**

短双歧杆菌在琼脂平板表面形成球形、表面光滑、半透明的灰白色黏软菌落

六、乳杆菌属

乳杆菌属（*Lactobacillus*）细菌是一群厌氧或微需氧的革兰阳性、无芽胞杆菌。该菌属细菌是人口腔和肠道的正常菌群成员。由于该菌在人口腔的龋蚀材料中检出，故视其为致龋

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

菌。《伯杰系统细菌学手册》将本菌增加到 44 个菌种，连同亚种共 51 个种。在口腔中常见菌种有嗜酸乳杆菌（*L. acidophilus*）、唾液乳杆菌（*L. salivavius*）、植物乳杆菌（*L. plantarum*）、发酵乳杆菌（*L. fermentum*）、短乳杆菌（*L. brevis*）、干酪乳杆菌（*L. casei*）。

菌细胞形态、大小变化较大，有细长形、粗短形、弯曲杆状、棒状、球杆状等，但与其他革兰阳性无芽胞杆菌比较，大多数乳杆菌的细胞相对比较规则，末端不分支且为方形或钝形。无芽胞、无荚膜，革兰染色阳性。

在厌氧或低氧体积分数的条件下，固体培养基表面培养物生长更佳，有的菌种必须在厌氧环境中分离培养。5%～10% 的 CO_2 条件可促进该菌生长，部分菌种可在 15℃或 45℃条件下生长。为耐酸菌，低 pH 值的 Rogosa 琼脂是乳杆菌菌种的选择培养基。最适生长 pH 值为 5.5～6.2。

在琼脂表面形成针尖大小到直径为 2mm 大小，圆形、白色或灰色、半透明到不透明的菌落。光滑型菌落软而凸起、有光泽、边缘整齐，粗糙型菌落表面干燥、扁平、无光泽、边缘不整齐。该属细菌一般不产生色素。

可发酵葡萄糖产酸，触酶试验、脲酶试验和细胞色素酶试验为阴性，不产生吲哚、不还原硝酸盐、不液化明胶、不产生 H_2S。糖发酵试验和水解精氨酸试验可鉴别本属菌种。

在深龋材料中该菌的检出率明显增高，表明该菌可促进龋蚀的发展。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 32%～53%（Bd 法或 *Tm* 法）。模式种是德氏乳杆菌。

（一）嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）

革兰阳性规则的杆菌（图 2-138 和图 2-139）。

厌氧生长良好。在 15℃环境下不生长，在 45℃环境下生长良好。BHI 血琼脂和 Rogosa 琼脂是常用培养基，后者为选择分离培养基。菌落特征见图 2-140、图 2-141、图 2-142、图 2-143 和图 2-144。

专性同型发酵菌，可产生 D- 或 L- 乳酸，发酵葡萄糖，大多数菌株亦可发酵淀粉，从精氨酸不产氨。



图 2-138　嗜酸乳杆菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

主要分离自人和动物的肠道，人的口腔和阴道。在少数新生儿口腔中可分离到嗜酸乳杆菌，随着儿童年龄的增长，该菌的定植数量逐渐减少，到儿童2岁时仅能检出很少量的嗜酸乳杆菌。嗜酸乳杆菌在口腔的定植部位主要是牙菌斑，在唾液、舌面、龈沟中较少见。嗜酸乳杆菌常常从深龋材料中检出，故认为该菌与龋齿的发展有关。

DNA的G+C摩尔分数为32%～37%（Bd法或*Tm*法）。模式株是ATCC4356。



图 2-139 嗜酸乳杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

嗜酸乳杆菌细胞大小一般为（0.6～0.9）μm×（1.5～6.0）μm，末端圆形，呈单个、成对或短链状排列，细胞壁成分中无胞壁酸。革兰染色阳性



图 2-140 嗜酸乳杆菌菌落（BHI 血琼脂）

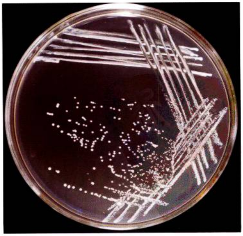


图 2-141 嗜酸乳杆菌菌落（Rogosa 琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

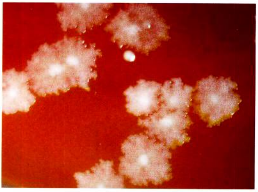


图 2-142　嗜酸乳杆菌粗糙型菌落
（体视显微镜 ×15）

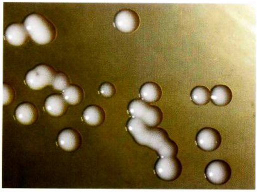


图 2-143　嗜酸乳杆菌光滑型菌落
（体视显微镜 ×15）

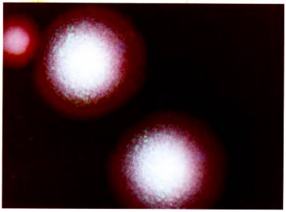


图 2-144　嗜酸乳杆菌粗糙型菌落表面特征（体视显微镜 ×30）
嗜酸乳杆菌的菌落为粗糙型和光滑型，体视显微镜下可见毛发状结构，无色素产生

（二）干酪乳杆菌（*Lactobacillus casei*）

干酪乳杆菌原有4个亚种：干酪亚种（*L. casei* subsp *casei*）、假植物亚种（*L. casei* subsp *pseudoplantarum*，该亚种现被命名为 *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*）、鼠李糖亚种（*L. casei* subsp *rhamnosas*，该亚种现命名为 *Lactobacillus rhamnosus*）和耐受亚种（*L. casei* subsp *toleons*，现命名为 *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*）。增加的新亚种是无乳亚种（*L. casei* subsp *alactosus*，现命名为 *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*）。

革兰阳性规则的杆菌（图 2-145 和图 2-146）。

厌氧生长良好，BHI 血琼脂和 Rogosa 琼脂是常用培养基，后者为选择分离培养基。菌落特征详见图 2-147、图 2-148、图 2-149。

人的肠道、口腔和阴道是干酪乳杆菌的主要定植部位，该菌亦可从牛乳和其他乳制品中检出。该菌在口腔的主要定植部位是牙菌斑。由于该菌在深龋材料中被检出，故被认为是致龋菌之一。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

兼性异型发酵菌。除干酪乳杆菌鼠李糖亚种外，其他亚种在15℃环境下生长，在45℃环境下不生长。

DNA的G+C摩尔分数为45%～47%（Bd法）。模式株：ATCC393（干酪乳杆菌干酪亚种）。

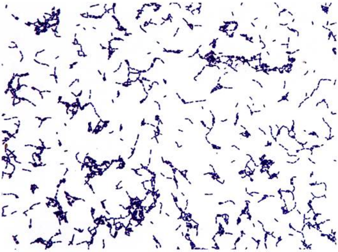


图 2-145　干酪乳杆菌细胞（革兰染色）

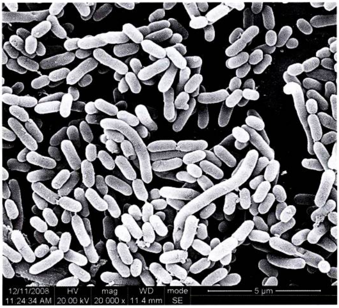


图 2-146　干酪乳杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
干酪乳杆菌菌细胞大小一般为（0.7～1.1×2.0～4.0）μm×（1.5～5.0）μm，末端常为钝形，多呈链状排列，革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-147　干酪乳杆菌菌落（BHI 血琼脂）



图 2-148　干酪乳杆菌菌落（Rogosa 琼脂）

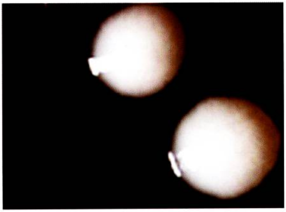


图 2-149　干酪乳杆菌乳酪样菌落（体视显微镜 ×15）
干酪乳杆菌在 BHI 血琼脂和 Rogosa 琼脂表面形成直径约 1mm 左右、圆形、表面光滑、不透明、乳白色菌落

（三）发酵乳杆菌（*Lactobacillus fermentum*）

革兰阳性规则的杆菌（图 2-150 和图 2-151）。

BHI 血琼脂和 Rogosa 琼脂是常用培养基，后者为选择分离培养基。菌落特征详见图 2-152、图 2-153 和图 2-154。

发酵乳杆菌可从人的口腔以及酵母、乳制品、发酵面、发酵的植物中检出，可能与龋齿和根管感染等口腔感染性疾病的发生有密切的关系。

通常在 45℃环境下生长良好，在 15℃环境下不生长，系专性异型发酵菌。其生长要求泛酸钙、尼克酸和硫胺素，不要求维生素 B_2、吡哆醛和叶酸。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 52%～54%（Bd 法或 *Tm* 法）。模式株是 ATCC14931。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

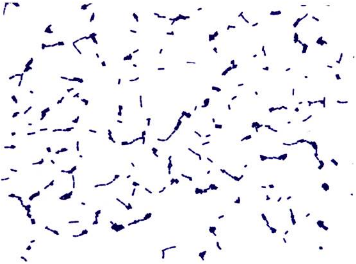


图 2-150 发酵乳杆菌细胞(革兰染色)

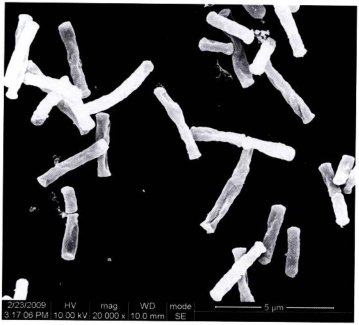


图 2-151 发酵乳杆菌细胞(扫描电镜 ×20 000)
菌细胞是宽 0.5～0.9μm，长度变化很大的杆菌，末端为方形或钝形。大多以单个或成对的形式排列。无芽胞、无动力、革兰染色阳性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-152　发酵乳杆菌菌落
（BHI 血琼脂）

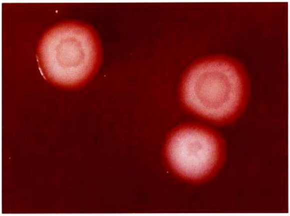


图 2-153　发酵乳杆菌菌落中心的同心圆结构
（体视显微镜 ×15）

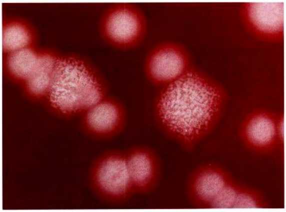


图 2-154　发酵乳杆菌的表面光滑菌落和带纹路的不光滑黏液样菌落（体视显微镜 ×15）
在 BHI 血琼脂表面形成直径 1mm 左右、凸起或略凸、不透明、表面光滑的灰白色菌落。体视显微镜下菌落特征尤为明显：菌落中心的同心圆结构，以及在同一平板上出现的凸起的边沿规则、表面光滑的球形菌落和略凸的、边沿不太规则、表面呈纹路样的不光滑的粘液样菌落

第四节　革兰阴性杆菌

一、埃 希 菌 属

大肠埃希菌（*Escherichia coli*）

俗称大肠杆菌，是人体最常见的肠杆菌科细菌。在新生儿口腔最先检出的革兰阴性杆菌是大肠埃希菌，其来源于出生过程中母亲阴道的污染。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

革兰阴性杆菌(图 2-155 和图 2-156)。
兼性厌氧菌，营养要求不高，有氧培养生长良好，菌落特征见图 2-157 和图 2-158。
可引起颌面部感染。

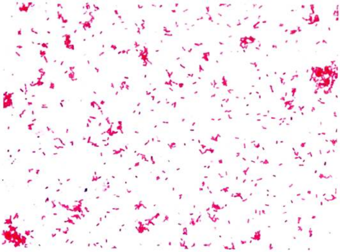


图 2-155 大肠埃希菌细胞(革兰染色)

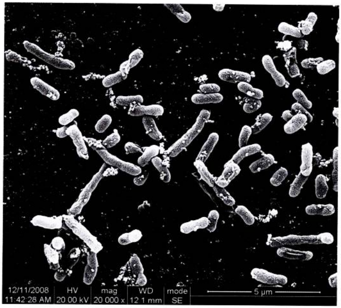


图 2-156 大肠埃希菌细胞(扫描电镜 ×20 000)
大肠埃希菌菌细胞大小为(0.4～0.7)μm×(1～3)μm，透射电镜下可见菌毛和周身鞭毛，可见端极浓染

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-157 大肠埃希菌菌落（BHI 血琼脂）

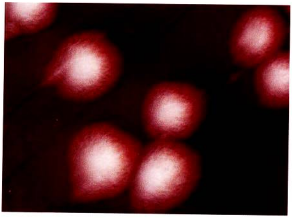


图 2-158 大肠埃希菌菌落（体视显微镜 ×15）
大肠埃希菌菌落为 2～3mm 的灰白色软菌落

二、嗜 血 菌 属

嗜血菌属（*Hemophilus*）是一群革兰阴性的兼性厌氧杆菌，因生长要求血液而得名。该菌属大多数细菌是人和动物口腔及鼻咽部的正常菌群成分之一，在口腔的主要定植部位是牙菌斑，其次是唾液、软腭等。

口腔中检出的嗜血菌属菌种有伴放线菌嗜血菌（*H. actinomycetemcomitans*）、流感嗜血菌（*H. influenzae*）、副流感嗜血菌（*H. parainfluenzae*）、嗜沫嗜血菌（*H. aphrophilus*）、副嗜沫嗜血菌（*H. paraphrophilus*）、副溶血嗜血菌（*H. parahaemolyticus*）、溶血类嗜沫嗜血菌（*H. praaprohaemolyticus*）和惰性嗜血菌（*H. segnis*）等。在最新的分类中伴放线菌嗜血菌、嗜沫嗜血菌和惰性嗜血菌被纳入新菌属：聚集杆菌（*Aggregatibacter*），分别命名为：伴放线菌聚集杆菌（*A. actinomycetemcomitans*）、嗜沫聚集杆菌（*A. aphrophilus*）、惰性聚集杆菌（*A. segnis*）。

菌细胞一般为宽度小于 1μm、长度不一的细小至中等大小的球杆状或杆状，有时可见细丝状体细胞，呈明显的多形态。该属细菌无芽胞、无荚膜、无动力，革兰染色阴性。

化能有机营养菌。在 37℃ 48h 的血琼脂表面，大多数菌种形成直径 0.5～2.0mm，扁平或凸起、无色或浅黄色的光滑菌落，少数菌种如副流感嗜血菌产生粗糙型菌落。溶血嗜血菌、副溶血嗜血菌和溶血类嗜沫嗜血菌可产生 β- 溶血反应。在含葡萄糖的肉汤中，产生的终末代谢酸产物为乙酸、乳酸和琥珀酸。

口腔中常见的嗜血菌种大多数是人口腔和上呼吸道黏膜的正常菌群成员，一般不致病，但可作为条件致病菌参与口腔的混合感染，如牙周脓肿、下颌感染等。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 37%～44%（*Tm* 法）。模式株是流感嗜血菌。

（一）流感嗜血菌（*Haemophilus influenza*）

革兰阴性杆菌，菌细胞特点见图 2-159 和图 2-160。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

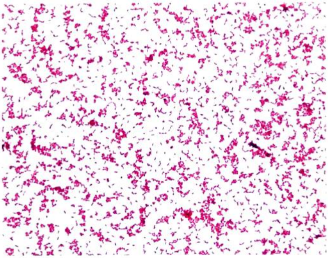


图 2-159 流感嗜血菌细胞（革兰染色）

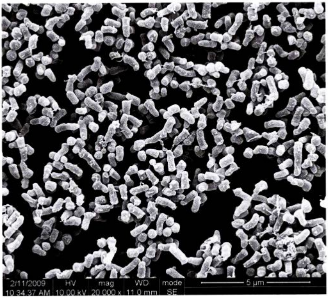


图 2-160 流感嗜血菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

流感嗜血菌细胞是（0.3～0.5）μm×（0.5～3.0）μm 大小，球杆状或细小杆状，无芽胞、无荚膜、无动力，革兰染色阴性

兼性厌氧菌，最适宜的生长大气环境为补充有 5%～10% CO_2 的大气条件，生长要求提供存在于血液中的生长因子，特别是 X 因子或 V 因子。巧克力琼脂是优选的生长培养基，菌落见图 2-161、图 2-162 和图 2-163。

可发酵葡萄糖和蔗糖产酸，但发酵半乳糖、果糖、麦芽糖和木糖产酸不定。可还原硝酸盐，但不还原亚硝酸盐。触酶试验为阳性，邻硝基苯 -β-D- 半乳吡喃糖苷（ONPG）试验为阴性。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

在健康儿童的鼻咽部的检出率可高达75%，但成人的带菌率很低，产生荚膜的菌株在健康鼻咽部的检出率仅为3%～7%。

DNA的G+C摩尔分数为39%（*Tm*法）。模式株NCTC8143（无荚膜的生物变型Ⅱ型）。

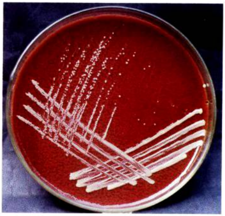


图 2-161　流感嗜血菌菌落（巧克力琼脂）

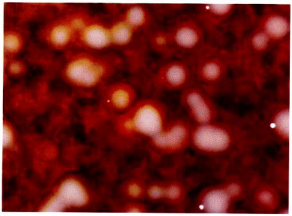


图 2-162　流感嗜血菌的黏稠菌落（体视显微镜 ×15）

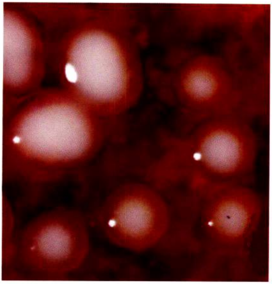


图 2-163　流感嗜血菌菌落（体视显微镜 ×30）

流感嗜血菌在巧克力琼脂表面培养24h后形成直径0.5～1mm、微凸、灰色、半透明和表面光滑的菌落。带荚膜的菌株常形成直径1～3mm大而黏稠的菌落

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

(二)伴放线菌嗜血菌

原名伴放线放线杆菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*),后被命名为伴放线菌嗜血菌,现名伴放线菌聚集杆菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*),是青少年牙周炎的主要病原菌。

革兰阴性杆菌,菌细胞见图 2-164、图 2-165 和图 2-166。

兼性厌氧菌,在补充 5%~10% CO_2 的微氧环境中生长良好,最适生长温度是 37℃,在 22℃环境中不生长。菌落特征见图 2-167、图 2-168 和图 2-169。

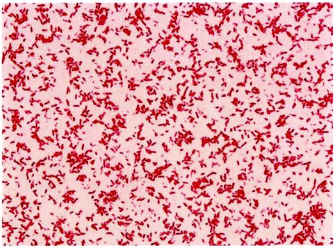


图 2-164 伴放线菌嗜血菌细胞(革兰染色)

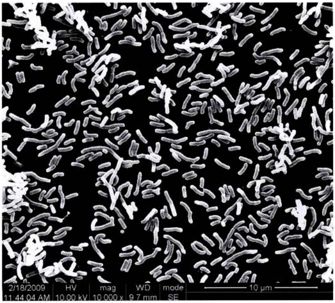


图 2-165 伴放线菌嗜血菌细胞(扫描电镜 ×10 000)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

可发酵果糖、葡萄糖、麦芽糖和甘露糖产酸，但不发酵蔗糖、海藻糖、乳糖、棉子糖、密二糖和阿拉伯糖。该菌氧化酶和触酶试验为阳性，可还原硝酸盐，不水解七叶苷和马尿酸钠，不产生 H_2S 和吲哚。

主要定植部位是龈下菌斑。该菌不仅可从正常口腔中检出，而且在青少年牙周炎患者的牙周损害部位有较高的检出率，被视其为青少年牙周炎的重要病原菌。

DNA 的 G+C 摩尔数为 43%（*Tm* 法）。模式株是 NCTC9710。



图 2-166　伴放线菌嗜血菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

伴放线菌嗜血菌细胞为（0.5～0.8）μm×（0.6～1.4）μm 大小，球形或球杆状，杆状细胞多见于琼脂培养物。菌细胞排列呈单个、成对或成堆状，无芽胞、无动力、不形成荚膜，革兰染色阴性



图 2-167　伴放线菌嗜血菌菌落（BHI 血琼脂）

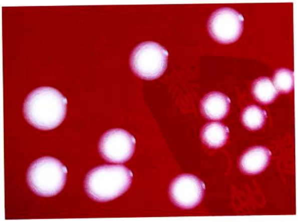


图 2-168　伴放线菌嗜血菌菌落（体视显微镜 ×15）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

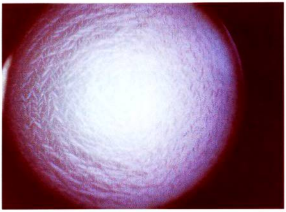


图 2-169　伴放线菌嗜血菌菌落（体视显微镜 ×30）

伴放线菌嗜血菌在琼脂培养基表面形成直径 0.5～1.0mm 的小菌落，初代培养物常黏附于琼脂表面而不易剥离。典型菌落为星状或交叉的雪茄状，边缘不规则。肉汤培养物呈细小的颗粒样混浊，常常黏附在管壁上，但部分菌株在反复培养后可呈现均匀混浊

三、艾肯菌属

艾肯菌属（*Eikenella*）细菌是一群革兰阴性无芽胞的兼性厌氧杆菌。

啮蚀艾肯菌（*E. corrodens*）

因其产生典型的可侵蚀琼脂的菌落而得名，又名侵蚀艾肯菌，是艾肯菌属唯一的菌种。革兰阴性杆菌见图 2-170、图 2-171 和图 2-172。

兼性厌氧菌，初代培养时要求无氧条件或补充 5%～10% CO_2 的大气条件，在有氧条件下生长时要求补充氯化血红素（5～25mg/L）。其最适生长温度是 35～37℃，生长要求充分的湿度，最适 pH 值为 7.3。菌落特征见图 2-173、图 2-174 和图 2-175。

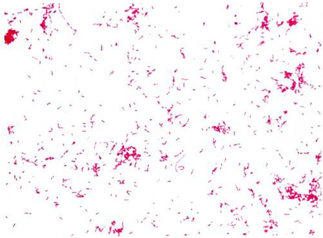


图 2-170　啮蚀艾肯菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

在液体培养基中生长较差。在肉汤中补充 0.2% 琼脂、胆固醇（10mg/L）和 3% 血清可促进其生长。在有氧条件下，浓度 5%～10% 的胆汁可抑制该菌生长，但在无氧条件下该菌可耐受浓度为 10% 的胆汁。

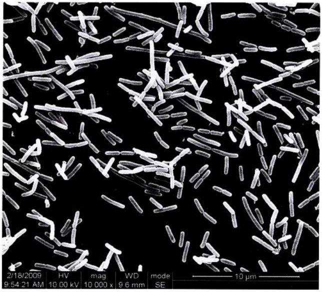


图 2-171　啮蚀艾肯菌细胞（扫描电镜 ×10 000）



图 2-172　啮蚀艾肯菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

啮蚀艾肯菌细胞为（0.3～0.4）μm×（1.5～4.0）μm 大小，不分支、末端圆、形态规则的杆状，以球杆状和短杆状多见，偶见短的丝杆状。无芽胞、无动力，在琼脂表面可见“振颤形运动”。革兰染色阴性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

生化性状不活泼，不发酵葡萄糖和其他碳水化合物产酸。该菌触酶、脲酶、精氨酸脱氢酶和吲哚试验均为阴性，硝酸盐还原试验为阳性，氧化酶和赖氨酸脱羧酶试验为阳性。

口腔和肠道的正常菌群成员，亦可从上呼吸道和泌尿生殖道标本中分离到。作为条件致病菌常常与其他细菌一道引起混合菌感染，较常见的是口腔和呼吸道感染，在成人牙周炎活动性病损区和拔牙创干槽症标本中的检出率较高，是牙周炎的可疑病原菌之一。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 56%～58%（*Tm* 法）。模式株是 ATCC23834（NCTC10596）。

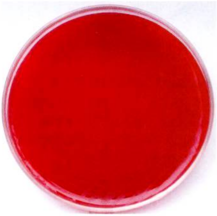


图 2-173 啮蚀艾肯菌菌落（BHI 血琼脂）

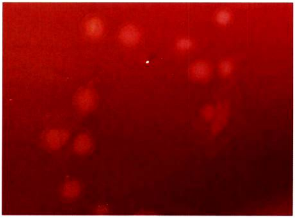


图 2-174 啮蚀艾肯菌侵蚀性菌落（体视显微镜 ×15）

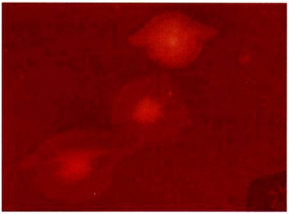


图 2-175 啮蚀艾肯菌侵蚀性菌落中心的珍珠环结构（体视显微镜 ×30）

啮蚀艾肯菌的琼脂培养物有特殊的漂白粉味，或类似嗜血菌属和巴斯德菌属琼脂培养物的气味。在血琼脂上不产生溶血反应，但菌落周围可见轻微的绿色环。在血琼脂培养基表面可形成侵蚀性和非侵蚀性两种不同的菌落：①侵蚀性菌株在 36℃、补充 15% CO_2 的大气条件和 100% 湿度的血琼脂表面形成直径 0.2～0.5mm（孵育 24 小时）或 0.5～1.0mm（孵育 48 小时）、浅黄色、不透明的菌落，菌落中心有一清晰、闪耀如珍珠的环，且具有粗糙、不折射、毛发样扩散的边缘，侵蚀琼脂表面可见振颤形运动。②非侵蚀菌株则形成直径 0.5～1mm、半球形、半透明的菌落，无毛发样扩散边缘，不侵蚀和不黏附于琼脂，无振颤形运动

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

四、二氧化碳噬纤维菌属

二氧化碳噬纤维菌属（*Capnocytophaga*）细菌系革兰阴性兼性厌氧杆菌，最早从人口腔龈下菌斑中分离并命名。常见的二氧化碳噬纤维菌菌种有：黄褐二氧化碳噬纤维菌（*C. ochracer*）、生痰二氧化碳噬纤维菌（*C. sputigena*）、牙龈二氧化碳噬纤维菌（*C. gingivalis*）、颗粒二氧化碳噬纤维菌（*C. granulosa*）和溶血二氧化碳噬纤维菌（*C. heamolytica*）。

菌细胞为（0.42～0.6）μm×（2.5～2.7）μm 大小、长短不一的屈绕杆状或丝状，末端通常圆或略尖。其液体培养细胞呈多形态或长丝状体，并可见紧密的团块。该属细菌无荚膜和鞘形成，不形成芽胞，无鞭毛，具滑动动力，革兰染色为阴性。

兼性厌氧菌，但在有氧培养时不生长，在补充 CO_2 的厌氧环境中生长良好，初代培养物则必须在补充 CO_2 的厌氧环境中生长。

在 TS 血琼脂和 BHI 血琼脂表面，常常形成薄而扁平的润湿性菌落，呈扩散生长，其边缘参差不齐，通过斜射光线可清楚看见似手指的投影像边沿。在 35～37℃，孵育 24h 的菌落如针尖大小；孵育 48～96h 的菌落直径为 2～4mm、凸起，有的菌落可凹入琼脂。除溶血二氧化碳噬纤维菌外（产生 β- 溶血反应），其他菌种在血琼脂上不产生溶血反应。培养基的琼脂浓度可影响其滑动动力。其培养物可产生一种特殊的气味，似焦糖味或苦杏仁味。

在琼脂表面的菌落，可产生灰白色到粉红色及橙黄色色素，细胞离心沉淀物呈黄色到橘红色。

不产生吲哚，可发酵葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露糖和蔗糖产酸，不发酵甘露醇和木糖，水解七叶苷，触酶和氧化酶试验为阴性，ONPG 和联苯胺试验为阳性。是否还原硝酸盐，水解葡聚糖、淀粉和明胶等生化试验有助于该属菌种的鉴别。

人和灵长类动物体内的正常菌群成员，主要定植在口腔，是口腔常见的细菌，可从口腔的各部位如牙菌斑、龈沟、唾液，以及痰液和咽喉标本中检出。该属细菌常常从口腔的混合菌感染灶中检出，如青少年牙周炎、感染根管、拔牙创干槽、口腔黏膜溃疡等临床标本，亦可从菌血症、软组织感染、各种损伤部位及脓肿、脑脊液、阴道、颈部、羊水、气管和眼中分离到。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 33%～41%（*Tm* 法）。模式种是黄褐二氧化碳噬纤维菌。

（一）牙龈二氧化碳噬纤维菌（*Capnocytophaga gingivalis*）

革兰阴性杆菌（图 2-176、图 2-177 和图 2-178）。

培养特性见本菌属介绍的有关内容，菌落特点见图 2-179 和图 2-180。

不发酵乳糖、半乳糖、苦杏仁苷、水杨素、纤维二糖、七叶苷和糖原，不水解淀粉、葡聚糖及明胶，仅有 8% 的菌株可还原硝酸盐。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 40%（*Tm* 法）。模式株是 ATCC33624。

（二）生痰二氧化碳噬纤维菌（*Capnocytophaga sputigena*）

革兰阴性杆菌（图 2-181、图 2-182 和图 2-183）。

培养特性见本菌属介绍的有关内容，菌落特点见图 2-184 和图 2-185。

可发酵乳糖、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖，不发酵甘露醇、纤维二糖、糖原及木糖，不水解淀粉和葡聚糖。水解明胶和还原硝酸盐是区别该菌种与本属其他菌种的重要特性。

被认为与青少年牙周炎关系密切。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 33%～38%（*Tm* 法）。模式株是 ATCC33612。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-176　牙龈二氧化碳噬纤维菌细胞（革兰染色）

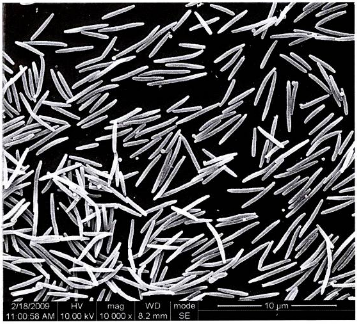


图 2-177　牙龈二氧化碳噬纤维菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

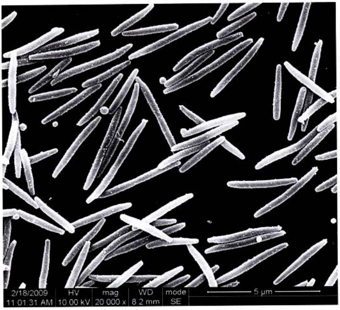


图 2-178　牙龈二氧化碳噬纤维菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

牙龈二氧化碳噬纤维菌菌细胞形态为屈挠的纤柔状梭形杆菌，末端通常较圆，细胞常常呈排列有序的堆积状。革兰染色阴性



图 2-179　牙龈二氧化碳噬纤维菌菌落（BHI 血琼脂）

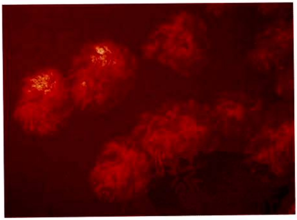


图 2-180　牙龈二氧化碳噬纤维菌毛发状扩散菌落（体视显微镜 ×30）

牙龈二氧化碳噬纤维菌在 BHI 血琼脂表面的菌落为不规则的、灰白色菌落，边缘参差不齐，通过斜射光线可见似手指投影像边沿。在体视显微镜下可见菌落典型的毛发状扩散

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

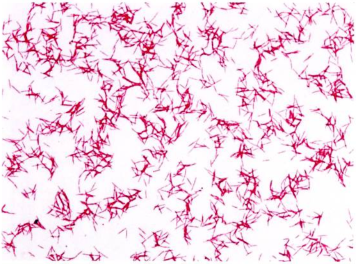


图 2-181　生痰二氧化碳嗜纤维菌细胞(革兰染色)

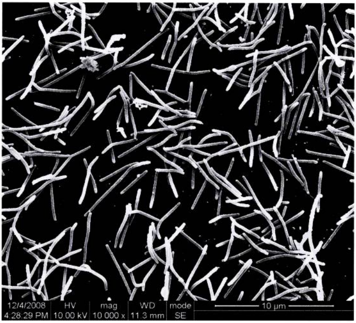


图 2-182　生痰二氧化碳嗜纤维菌细胞(扫描电镜 × 10 000)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-183　生痰二氧化碳噬纤维菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

生痰二氧化碳噬纤维菌菌细胞形态为屈挠的梭状杆菌，末端通常较圆。无芽胞。革兰染色阴性



图 2-184　生痰二氧化碳噬纤维菌菌落（BHI 血琼脂）

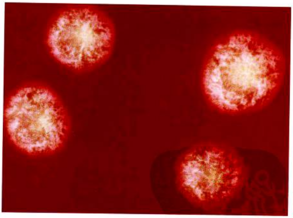


图 2-185　生痰二氧化碳噬纤维菌表面呈丝网状结构的菌落（体视显微镜 ×15）

生痰二氧化碳噬纤维菌在 BHI 血琼脂表面的菌落为扁平、扩散的橙色菌落。在体视显微镜下的菌落可见典型的丝网状结构

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

五、拟杆菌属

拟杆菌属（*Bacteroides*）又称为类杆菌属，是一群革兰阴性专性厌氧的无芽胞杆菌，属拟杆菌科。

专性厌氧的化能异养菌，可代谢碳水化合物、蛋白胨，或其他细菌的中间代谢产物。

口腔、肠道、阴道的常见寄居菌。耐受胆汁（20% 的牛胆盐）的拟杆菌统称为脆弱拟杆菌群，包括脆弱拟杆菌（*B. fragilis*）、多形拟杆菌（*B. thetaiotaomicron*）等。在阑尾炎、腹膜炎和宫颈炎等临床标本的培养物中检出。该菌属中原产生黑色素的菌种和不耐受胆汁的菌种，现已重新分类到卟啉单胞菌属和普雷沃菌属中。

葡萄糖肉汤培养细胞为（0.8～1.8）μm×（1.6～0.8）μm 大小，末端常常可见空泡或端极浓染。细胞排列呈单个或成对，无芽胞。许多菌株可产生荚膜。革兰染色为阴性。

（一）脆弱拟杆菌（*Bacteroides fragilis*）

革兰阴性杆菌，菌细胞见图 2-186、图 2-187 和图 2-188。

专性厌氧菌。其生长最佳的培养基是添加氯化血红素和维生素 K_1 的营养琼脂。20% 的胆汁可促进其生长，最适生长 pH 值为 7.0，菌落特点见图 2-189、图 2-190。

在 PYG 液体培养基中的主要酸产物为琥珀酸和乙酸，其次为乳酸、丙酸、异戊酸、异丁酸、甲酸和苯乙酸。

生化性状较活泼，发酵葡萄糖、乳糖、麦芽糖、果糖、棉子糖等碳水化合物。水解七叶苷。靛基质阴性。在含 20% 胆汁的培养中生长。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 41%～44%（*Tm* 法）。模式株是 ATCC25285（NCTC9343）。

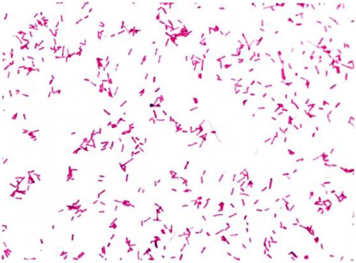


图 2-186 脆弱拟杆菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-187　脆弱拟杆菌细胞（扫描电镜 ×10 000）



图 2-188　脆弱拟杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

脆弱拟杆菌菌细胞为两端圆形的杆菌，可见明显的端极浓染。葡萄糖肉汤培养物细胞大小为（0.8～1.3）μm×（1.6～8.0）μm。细胞呈单个或成对排列。革兰染色阴性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

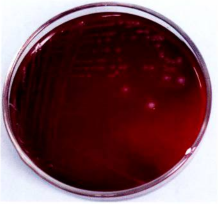


图 2-189　脆弱拟杆菌菌落（BHI 血琼脂）

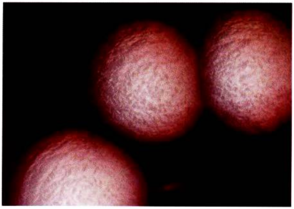


图 2-190　脆弱拟杆菌菌落（体视显微镜 ×15）
脆弱拟杆菌在血琼脂培养基表面形成大小约 1～3mm、圆形、光滑、半透明到不透明、边沿完整的灰白色菌落

（二）多形拟杆菌（*Bacteroides thetaiotaomicron*）

革兰染色阴性（图 2-191 和图 2-192）。扫描电镜下的菌细胞见图 2-193 和图 2-194。

专性厌氧菌。生长特性参见脆弱拟杆菌，菌落特性见图 2-195 和图 2-196。

生化性状活泼，发酵葡萄糖、乳糖、麦芽糖、果糖、棉子糖、阿拉伯糖、纤维二糖、鼠李糖、海藻糖等碳水化合物。水解七叶苷。靛基质阳性。在含 20% 胆汁的培养中生长。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 40%～43%（*Tm* 法）。模式株是 ATCC29148（NCTC10582）。

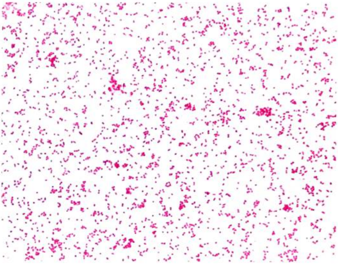


图 2-191　多形拟杆菌球形细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

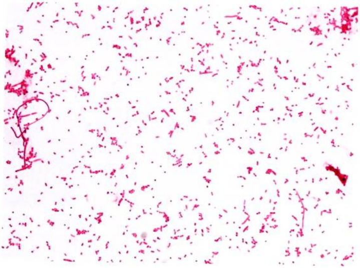


图 2-192　多形拟杆菌多形态细胞（革兰染色）



图 2-193　多形拟杆菌的多形态细胞（扫描电镜 × 10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

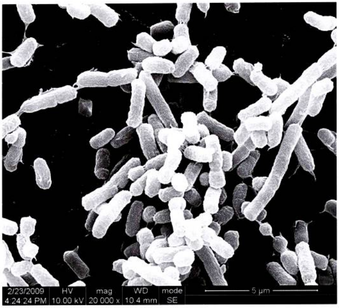


图 2-194　多形拟杆菌的多形态细胞（扫描电镜 ×20 000）
多形拟杆菌细胞为球形或两端圆形的多形态杆菌，可见端极浓染。葡萄糖肉汤培养物细胞大小为（0.7～1.1）μm×（1.3～8.0）μm。细胞呈单个或成对排列。革兰染色阴性



图 2-195　多形拟杆菌菌落（BHI 血琼脂）

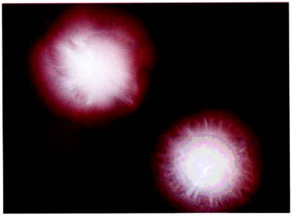


图 2-196　多形拟杆菌菌落（体视显微镜 ×15）
多形拟杆菌在 BHI 血琼脂培养基表面形成大小约 1～3mm、凸起、有光泽、软、浅白色的圆形菌落。体视显微镜下可见菌落表面的橘瓣样结构

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

六、梭 杆 菌 属

梭杆菌属(*Fusobacterium*)细菌是一群革兰阴性无芽胞的专性厌氧杆菌,属拟杆菌科。在口腔中发现的梭杆菌属细菌主要有具核梭杆菌(*F. nucleatum*)、坏死梭杆菌(*F. necrophorum*)和可变梭杆菌(*F. varium*)等。

菌细胞大多为梭状细胞,但也可呈多形态细胞。如多形梭杆菌可呈多形态的球状或长丝状细胞,而死亡梭杆菌则可呈明显多形态、不规则的球形肿胀细胞和线性细胞。无动力、无芽胞,革兰染色为阴性。

专性厌氧菌,能在有氧培养和补充 5%~10% CO_2 空气的琼脂平板表面生长。但对氧的敏感性与菌种、接种量和培养基的种类有关。

可从临床的脓液、坏疽性感染标本中检出。具核梭杆菌在唾液和菌斑中的检出率很高,被认为是牙周炎、根管感染和拔牙后感染的混合感染性细菌之一。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 26%~34%。模式种是具核梭杆菌。

(一) 具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)

有 5 个亚种。它们分别是具核梭杆菌动物亚种(*F. nucleatum* subsp. *animalis*)、梭形亚种(*F. nucleatum* subsp. *fusiforme*)、具核亚种(*F. nucleatum* subsp. *nucleatum*)、多形亚种(*F. nucleatum* subsp. *polymorphum*)和文氏亚种(*F. nucleatum* subsp. *vincentii*)。

革兰阴性梭状杆菌,菌细胞见图 2-197、图 2-198 和图 2-199。

专性厌氧菌,但在氧的体积分数超过 6% 时也可能生长,在空气中暴露 100 分钟后仍可存活。菌落特性见图 2-200、图 2-201、图 2-202。

生化反应不活泼,不转化乳酸盐成丙酸盐,可产生吲哚和 DNase,但未检出磷酸酶。大多数菌株产生 H_2S。该菌对人和动物的红细胞有凝聚作用。

主要分离自口腔的龈缘和龈沟,是口腔正常菌群成员,也可从上呼吸道和胸腔感染灶中分离到,偶尔从伤口和其他类型的感染灶中检出。具核梭杆菌作为口腔感染性疾病的协同致病菌,在破坏性牙周炎和牙髓感染样本中均有较高的检出率。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 27%~28%。模式株是 ATCC25586。

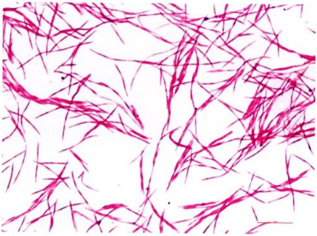


图 2-197 具核梭杆菌细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频,微信公众号里搜索qzkqsp1(茄子口腔视频1首字母)即可关注

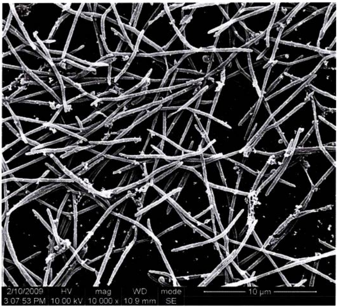


图 2-198　具核梭杆菌细胞(扫描电镜 ×10 000)

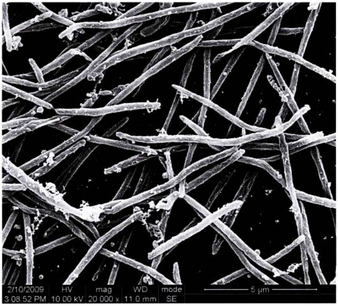


图 2-199　具核梭杆菌细胞(扫描电镜 ×20 000)

具核梭杆菌葡萄糖肉汤培养细胞为(0.4～0.7)μm×(3～10)μm、末端呈梭形或尖状，菌细胞中央肿胀并可见典型的革兰阳性胞内颗粒。细胞长度一般与生长情况有关。无菌毛和鞭毛。革兰染色阴性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-200 具核梭杆菌菌落（BHI 血琼脂）

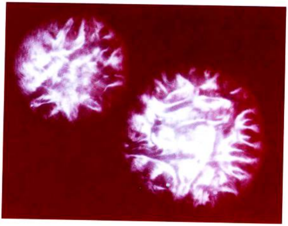


图 2-201 具核梭杆菌的“面包屑样”菌落（体视显微镜 × 15）



图 2-202 唾液样本中分离的具核梭杆菌菌落（体视显微镜 × 15）

具核梭杆菌在血琼脂表面形成直径 1～2mm、圆形或略不规则、凸起、垫状、半透明并带有恶臭味的菌落，通过斜射光线观察时常见菌落带有斑点，故常称为“面包屑样”菌落。在马血和兔血琼脂上一般不产生溶血反应。葡萄糖肉汤培养物可见絮状或颗粒样沉淀，不一定产生混浊，可嗅到一种恶臭味，最终 pH 值是 5.6～6.2

（二）坏死梭杆菌（*Fusobacterium necrophorum*）

有两个亚种：坏死梭杆菌基形亚种（*F. necrophorum* subsp. *funduliforme*）和坏死梭杆菌坏死亚种（*F. necrophorum* subsp. *necrophorum*）。

革兰阴性杆菌，菌细胞形态多样（图 2-203、图 2-204、图 2-205、图 2-206 和图 2-207）。其细胞壁脂多糖中含有庚糖和 KDO。

专性厌氧菌。培养特性参见本菌属有关内容。菌落特征见图 2-208、图 2-209、图 2-210、图 2-211 和图 2-212。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

葡萄糖肉汤培养物呈混浊状，可见光滑、絮状、颗粒或牵丝状沉淀。葡萄糖和果糖的肉汤培养物的最终 pH 值为 5.6～6.3，少数菌株的麦芽糖培养物的最终 pH 值为 5.8～5.9。

可凝集人血、兔血和豚鼠血红细胞，但不凝集牛血红细胞。该菌不水解葡聚糖，未检出磷酸酶、超氧化物歧化酶或赖氨酸脱羧酶，可产生 DNase。

主要分离自人和动物体的一些临床标本，如脓肿、血液及坏死的损伤处，特别是肝脓肿中。该菌可从口腔中检出。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 31%～34%。模式株是 ATCC25286。

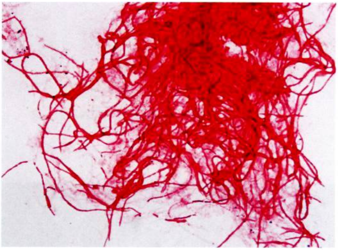


图 2-203 坏死梭杆菌的丝状体细胞（革兰染色）

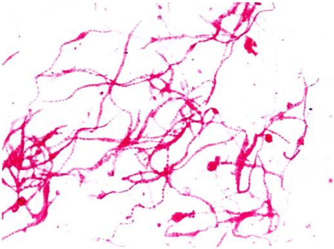


图 2-204 坏死梭杆菌带有颗粒内涵物的丝状体细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

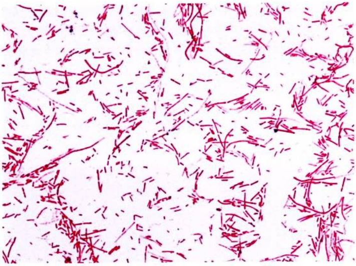


图 2-205　坏死梭杆菌的杆菌细胞（革兰染色）

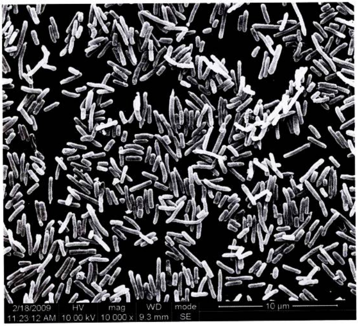


图 2-206　坏死梭杆菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-207　坏死梭杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

坏死梭杆菌细胞形态多样，细胞长度变化很大，球状体、杆状，到大于 100μm 的长丝状体均可见到。葡萄糖肉汤培养细胞直径为 0.5～0.7μm，可肿胀至 1.8μm 以上。细胞末端圆或尖。带有颗粒内涵物的丝状体常见于肉汤培养物中，而杆菌形式多见于陈旧培养物和琼脂培养物细胞。革兰染色阴性

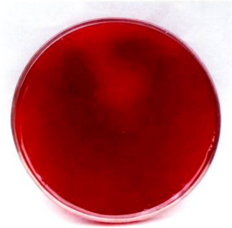


图 2-208　坏死梭杆菌产生 α 溶血的菌落（BHI 血琼脂）

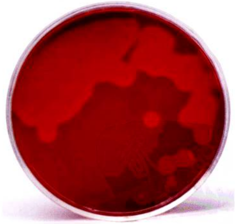


图 2-209　坏死梭杆菌产生 β 溶血环的菌落（BHI 血琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

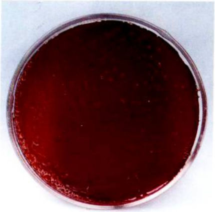


图 2-210 坏死梭杆菌菌落(BHI 羊血琼脂)

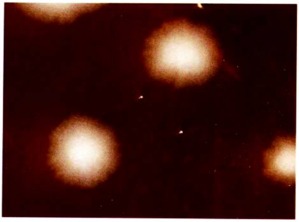


图 2-211 坏死梭杆菌带有镶嵌内部结构的锯齿形菌落(BHI 羊血琼脂，体视显微镜 ×15)

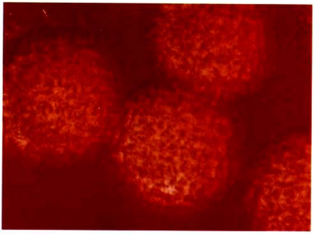


图 2-212 坏死梭杆菌菌落的线团样结构(体视显微镜 ×30)

坏死梭杆菌在血琼脂表面形成直径 1～2mm、圆形、凸起到脐状、表面奶油色、半透明到不透明、边缘呈扇形或锯齿形的菌落，通过斜射光可见一镶嵌的内部结构。大多数菌株在兔血琼脂上产生 α- 溶血反应或 β- 溶血反应。通常 β- 溶血菌株在蛋黄琼脂上的脂酶为阳性，而 α- 溶血和非溶血菌株的脂酶为阴性，不产生卵磷脂酶

(三) 可变梭杆菌(*Fusobacterium varium*)

革兰阴性杆菌，菌细胞见图 2-213、图 2-214 和图 2-215。细胞壁脂多糖含有庚糖和 KDO。专性厌氧菌。培养特性参见本菌属有关内容。菌落特征见图 2-216 和图 2-217。

不水解葡聚糖、不产生磷酸酶，但可产生赖氨酸脱氢酶和 DNase。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

分离自人的口腔和粪便，在化脓性感染伤口、上呼吸道、腹膜炎等病灶位也可检出，但其致病性不清楚。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 26%～28%。模式株是 ATCC8501（NCTC10560）。

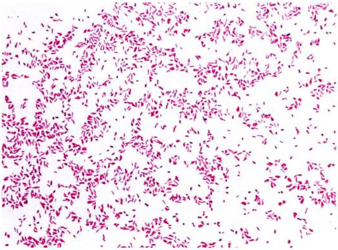


图 2-213　可变梭杆菌细胞（革兰染色）



图 2-214　可变梭杆菌细胞（扫描电镜 × 10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

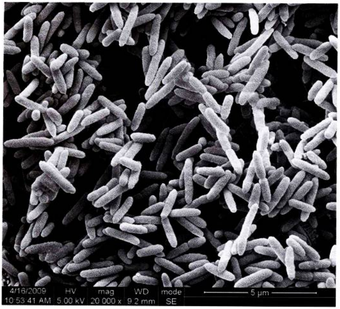


图 2-215　可变梭杆菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

可变梭杆菌细胞大小约(0.3～0.7)μm×(0.7～2.0)μm，多形态、球状和杆状均可见，呈单个或成对排列。革兰染色为阴性，但也有不均匀染色



图 2-216　可变梭杆菌菌落（BHI 血琼脂）

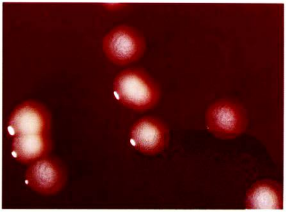


图 2-217　可变梭杆菌菌落（体视显微镜 ×30）

可变梭杆菌在血琼脂表面形成针尖到 1mm 大小，圆形、扁平低凸、中心灰白色、边缘无色半透明、边缘整齐的菌落

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

七、普雷沃菌属

普雷沃菌属(*Prevotella*)是以法国微生物学家 A.R.Prevol 的名字命名的一个菌属。该属细菌原属拟杆菌属，包括拟杆菌属中对胆盐敏感的菌种和解糖的产黑色素菌种。

在口腔中报道的普雷沃菌属主要菌种有：中间普雷沃菌(*P. intermedia*)、产黑色素普雷沃菌(*Prevotella melaninogenica*)、洛氏普雷沃菌(*P. loescheii*)、变黑普雷沃菌(*P. nigrescens*)、栖牙普雷沃菌(*P. dentocola*)和人体普雷沃菌(*P. corporis*)。

细胞以短杆状多见，偶见长杆状，无芽胞、无动力。革兰阴性杆菌。

专性厌氧菌，大多数菌种生长要求补充氯化血红素和维生素 K_1。在血琼脂平板表面，产生黑色素的普雷沃菌形成黑色菌落。在 PYG 液体培养基中产生的乙酸、琥珀酸为主要终末酸产物。发酵葡萄糖、水解明胶，对胆盐敏感可区别于耐受胆盐的拟杆菌属细菌。

普雷沃菌是人龈沟的优势菌，也是牙周炎的可疑病原菌。

(一) 中间普雷沃菌(*Prevotella intermedia*)

革兰阴性产黑色素厌氧杆菌，菌细胞见图 2-218、图 2-219 和图 2-220。

专性厌氧菌，生长要求氯化血红素和维生素 K_1，模式株在 25～45℃环境下均生长良好。其他培养特性参见本菌属有关内容。菌落特点见图 2-221 和图 2-222。葡萄糖肉汤培养物呈混浊状，伴有光滑的沉淀，有时为黏稠或轻度黏稠的沉淀，其最终 pH 值为 4.9～5.4。

产生吲哚，水解明胶，不水解七叶苷，发酵葡萄糖和蔗糖，不发酵阿拉伯糖、落叶松糖、纤维二糖、鼠李糖、乳糖、水杨素，可产生超氧化物歧化酶，但不水解葡聚糖。

主要定植部位是龈沟，也可从唾液、牙石和其他菌斑标本中检出。有报道指出，该菌是妊娠期牙龈炎的主要病原菌。此外，该菌还可从冠周炎、拔牙后感染灶、感染根管以及头、颈和胸膜感染标本中分离到，偶尔分离自血液、腹部和盆腔等部位的标本中。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 41%～44%。模式株是 ATCC25611。

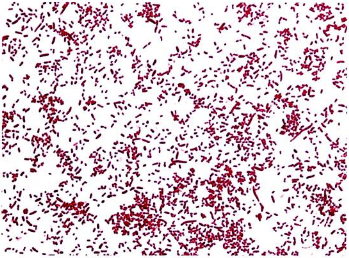


图 2-218 中间普雷沃菌细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

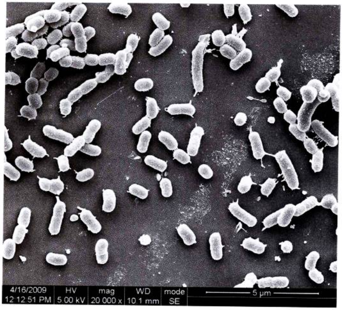


图 2-219　中间普雷沃菌球杆状和短杆状细胞（扫描电镜 ×20 000）

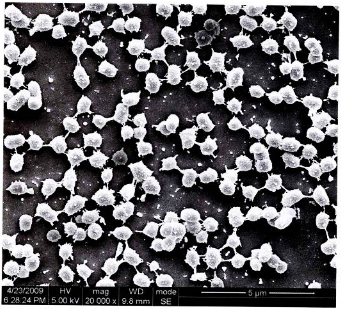


图 2-220　中间普雷沃菌球状细胞（扫描电镜 ×20 000）

中间普雷沃菌大多数菌细胞为（0.4～0.7）μm×（1.5～2.0）μm 大小，球状、球杆状和短杆状，部分菌细胞直径可达 12μm。革兰染色阴性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

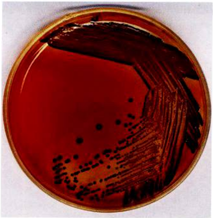


图 2-221　中间普雷沃菌菌落(BHI 血琼脂)

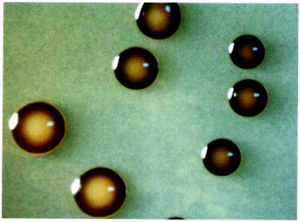


图 2-222　中间普雷沃菌菌落(体视显微镜 ×15)

中间普雷沃菌该菌的大多数菌株在血琼脂表面形成直径 0.5～2.0mm、圆形、低凸、半透明、表面光滑和溶血的菌落，老龄或大的菌落可能不透明。在厌氧条件下孵育 48h 后，菌落可能呈灰色、黄褐色、黑色。可产生 β- 溶血环在兔溶血琼脂上，有 1/3 的菌株在 2d 内就能产生暗褐色到黑色的菌落，菌落在长波紫外线下可见红砖色样荧光

(二) 变黑普雷沃菌(*Prevotella nigrescens*)

原为中间普雷沃菌菌种，不产生脂酶可区别于中间普雷沃菌。

革兰阴性无芽胞的产黑色素的专性厌氧杆菌，菌细胞特点见图 2-223、图 2-224。



图 2-223　变黑普雷沃菌细胞(革兰染色)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

培养特性参见中间普雷沃菌有关内容，菌落见图 2-225 和图 2-226。

大多数菌株发酵葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和糊精产酸，产生吲哚、水解淀粉、液化明胶，在含葡萄糖液体培养基中产生乙酸、琥珀酸、异丁酸和异戊酸。

DNA 的 G+C 摩尔分数是 40%～44%。模式株为 ATCC33563（即 NCTC9336，VPI8944）。

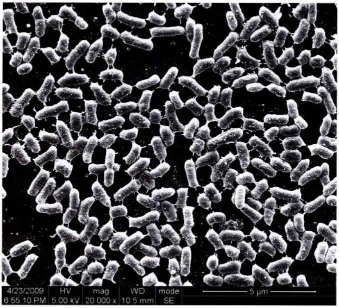


图 2-224　变黑普雷沃菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

变黑普雷沃菌的大多数细胞为短杆菌或球杆菌，肉汤培养细胞为（0.3～0.4）μm×（1～2）μm 大小，一些细胞可长达 6～10μm。革兰染色阴性

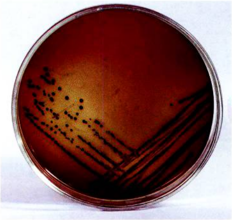


图 2-225　变黑普雷沃菌菌落（BHI 血琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-226　变黑普雷沃菌菌落（体视显微镜 ×15）

变黑普雷沃菌在马血琼脂上 72h 的菌落直径 0.5～2mm、圆形、边缘整齐、低凸、光滑、产生褐色或黑色色素，菌落周围通常为黑色、中间为奶油色到暗褐色。大多数菌株产生较弱的溶血反应，少数菌株产生 α- 溶血环

（三）产黑色素普雷沃菌（*Prevotella melaninogenica*）

革兰阴性无芽胞的产黑色素的专性厌氧杆菌，菌细胞见图 2-227 和图 2-228。

大多数菌株生长要求氯化血红素（1mg/L）和维生素 K_1（0.1mg/L），可在 pH 值 8.5 和 25℃环境下生长。菌落特征见图 2-229、图 2-230 和图 2-231。

分离自龈沟和临床标本。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 36%～40%。模式株是 ATCC25845。



图 2-227　产黑色素普雷沃菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

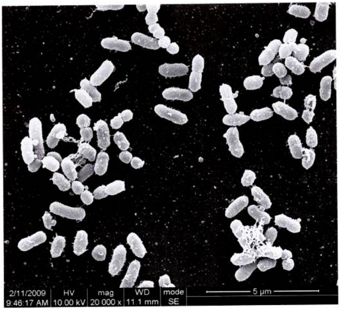


图 2-228　产黑色素普雷沃菌细胞（扫描电镜 ×20 000）
产黑色素普雷沃菌细胞为（0.5～0.8）μm×（0.9～2.5）μm 大小的短杆状，偶尔有长达 10μm 或更长的细胞。革兰染色阴性



图 2-229　产黑色素普雷沃菌菌落
（BHI 血琼脂）

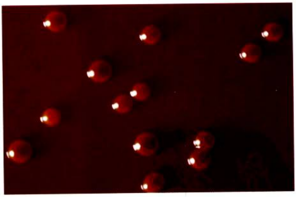


图 2-230　产黑色素普雷沃菌菌落
（体视显微镜 ×15）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

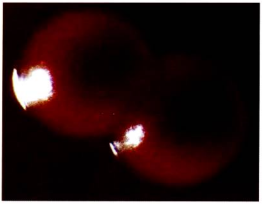


图 2-231 产黑色素普雷沃菌菌落（体视显微镜 ×30）

产黑色素普雷沃菌在血琼脂表面形成直径 0.5～2.0mm，圆形、凸起、有光泽、边缘整齐的菌落。菌落的中央通常为黑色，边缘为灰色到浅褐色，继续培养 5～14d 后，菌落全部变黑。少数菌株在兔血琼脂上产生 β- 溶血反应

（四）人体普雷沃菌（*Prevotella corporis*）

革兰阴性无芽胞的产黑色素的专性厌氧杆菌，菌细胞见图 2-232 和图 2-233。

生长要求氯化血红素和维生素 K_1。10% 的血清可促进其生长，并有利于某些菌株的发酵反应。菌落特征见图 2-234 和图 2-235。葡萄糖肉汤培养物呈混浊状，并常常有光滑或粗糙的沉淀附着在试管底部。最终 pH 值为 4.8～5.1。

从人的各种临床感染标本中检出，在口腔中可见。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 43%～46%。模式株是 ATCC33457。

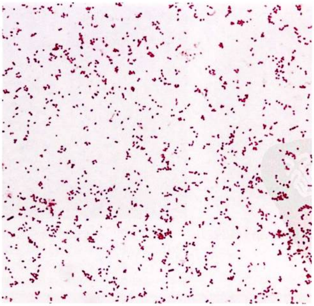


图 2-232 人体普雷沃菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

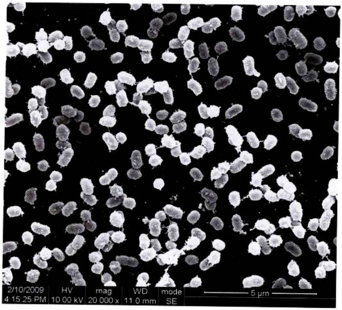


图 2-233　人体普雷沃菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

人体普雷沃菌的葡萄糖肉汤培养细胞为(0.9～1.6)μm×(1.6～4.0)μm 大小的杆状，呈单个、成对或短链状排列。也常见球菌细胞，偶尔有长丝状体细胞。革兰染色阴性

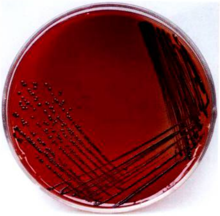


图 2-234　人体普雷沃菌菌落（BHI 血琼脂）



图 2-235　人体普雷沃菌菌落（体视显微镜 ×15）

人体普雷沃菌在厌氧血琼脂平板表面形成针尖到 1.0mm 大小，圆形、凸起、边缘整齐的菌落，孵育 48～72h 后可形成带有褐色边缘的浅黄色菌落，而 4～7d 的菌落为黑褐色

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（五）洛氏普雷沃菌（*Prevotella loescheii*）

革兰阴性无芽胞的产黑色素的专性厌氧杆菌，菌细胞见图 2-236、图 2-237 和图 2-238。

生长要求氯化血红素，浓度为 10% 的血清对其生长和发酵反应均有促进作用。体视显微镜下的菌落见图 2-239、图 2-240。

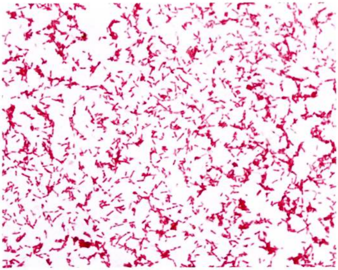


图 2-236 洛氏普雷沃菌细胞（革兰染色）



图 2-237 洛氏普雷沃菌细胞（扫描电镜 ×10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

葡萄糖肉汤培养物呈混浊状，并伴有光滑的沉淀，最终 pH 值为 4.9～5.4。在 SIM 培养基中不生产 H_2S，但水解七叶苷、发酵纤维二糖的特性有助于该菌与产黑色素普雷沃菌和栖牙普雷沃菌相区别。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 46%（模式株）。模式株是：ATCC15930（NCTC11321）。

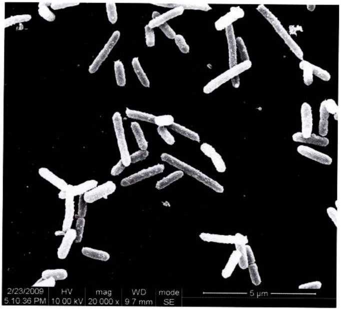


图 2-238　洛氏普雷沃菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

洛氏普雷沃菌葡萄糖肉汤培养细胞为（0.4～0.6）μm×（0.8～15）μm 大小，短杆状多见，也可见球杆状和长杆状，呈单个、成对或链状排列，革兰染色阴性



图 2-239　洛氏普雷沃菌菌落（BHI 血琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

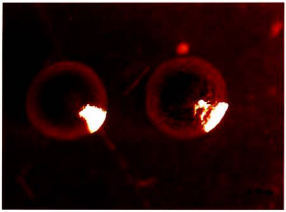


图 2-240 洛氏普雷沃菌菌落(体视显微镜 ×15)

洛氏普雷沃菌在厌氧血琼脂平板表面形成直径 1.0～2.0mm、圆形、低凸、有光泽、半透明、表面光滑、边缘整齐的菌落。在含全血的平板表面，培养 48h 的菌落呈白色或浅黄色，继续厌氧孵育至 14d，菌落变为浅褐色，也有一些菌株不产生明显的黑褐色或黑色菌落

八、卟啉单胞菌属

1998 年，三种在生物学性状上与拟杆菌属其他菌种有显著差异，但又具相关同源性的不发酵碳水化合物的产黑色素的拟杆菌菌种：不解糖拟杆菌(*B. asaccharolyticus*)、牙龈拟杆菌(*B. gingivalis*)和牙髓拟杆菌(*B. endodentalis*)被重新命名为新菌属：卟啉单胞菌属(*Porphyromonas*)的菌种。在口腔中发现的卟啉单胞菌属细菌主要有牙龈卟啉单胞菌(*P. gingivalis*)和牙髓卟啉单胞菌(*P. endodentalis*)。

肉汤培养细胞一般为(0.5～0.8) μm×(1.0～3.5) μm 大小的较小杆状或球杆状，偶尔有 4～6μm 的长细胞。该属细菌无芽胞、无动力，革兰染色阴性。

专性厌氧菌，最适生长温度为 37℃。在血琼脂平板上可形成直径 1～3mm、凸起、有光泽、表面光滑(很少粗糙型)的菌落。

在 PYG 培养基中产生的主要终末酸产物是丁酸和乙酸，也可有少量的丙酸、异丁酸和异戊酸。

DNA 的 G+C 摩尔分数是 46%～54%。模式种是不解糖卟啉单胞菌。

(一) 牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)

产黑色素的革兰阴性无芽胞的专性厌氧杆菌，菌细胞见图 2-241、图 2-242。

细胞壁肽聚糖含赖氨酸，主要的呼吸醌类是具有 9 个异戊二烯单位的不饱和甲基萘醌类。

专性厌氧菌，生长要求氯化血红素和维生素 K_1。血红素是主要的卟啉产物。菌落特性见图 2-243 和图 2-244。

在 BM 或 PYG 培养基中产生的主要终末酸产物是丁酸和乙酸，亦有少量的丙酸、异丁酸、异戊酸和苯乙酸。

产生吲哚，不产生 α- 墨色藻酶，不还原硝酸盐成亚硝酸盐，不水解七叶苷和淀粉。苹果酸脱氢酶(MDH)和谷氨酸脱氢酶阳性，葡萄糖磷酸脱氢酶、6- 磷酸葡萄糖酸盐脱氢酶阴性和

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

产生乙酸是区别于其他卟啉单胞菌的重要鉴别特性。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 46%～48%。模式株是 ATCC33277。

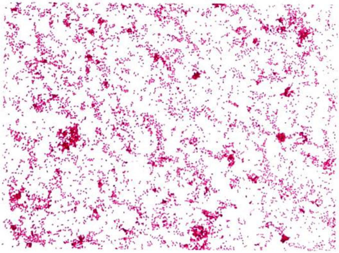


图 2-241　牙龈卟啉单胞菌细胞（革兰染色）

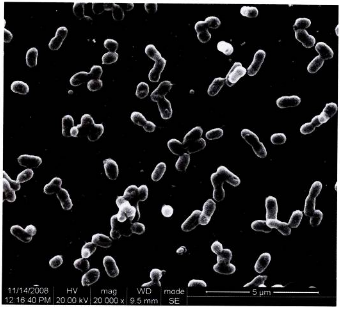


图 2-242　牙龈卟啉单胞菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

牙龈卟啉单胞菌菌细胞为 0.5μm×(1～2)μm 大小的杆状或球杆状，固体培养基上的细胞为球杆状或很短的杆状。革兰染色阴性

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-243　牙龈卟啉单胞菌菌落（BHI 血琼脂）

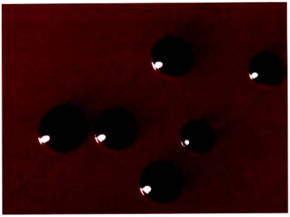


图 2-244　牙龈卟啉单胞菌菌落（体视显微镜 ×15）
牙龈卟啉单胞菌在血琼脂平板表面形成直径 1～2mm、凸起、有光泽、表面光滑（偶尔粗糙）的黑色菌落，培养 4～8d 后可见从菌落边缘向中心扩散的黑色素；有极少数的菌落不产生黑色素

（二）牙髓卟啉单胞菌（*Porphyromonas endodontalis*）

产黑色素的革兰阴性无芽胞的专性厌氧杆菌，菌细胞见图 2-245 和图 2-246。

专性厌氧菌，生长要求氯化血红素和维生素 K_1。菌落特点见图 2-247 和图 2-248。

在培养基中的主要终末酸产物是正丁酸和乙酸，亦可见少量的丙酸、异丁酸和异戊酸，不产生苯乙酸。

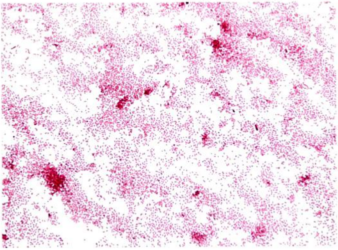


图 2-245　牙髓卟啉单胞菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

可水解明胶和精氨酸，水解蛋白质的活性极低，不水解七叶苷和淀粉，可产生吲哚和硫化氢，不产生 α- 墨角藻酶，不还原硝酸盐为亚硝酸盐。羊红细胞凝集试验为阴性，MDH 和谷氨酸脱氢酶为阳性，葡萄糖磷酸脱氢酶和 6- 磷酸葡萄糖酸盐脱氢酶为阴性。

DNA 的 G+C 摩尔分数为 49%～51%。模式株是 ATCC 35406。

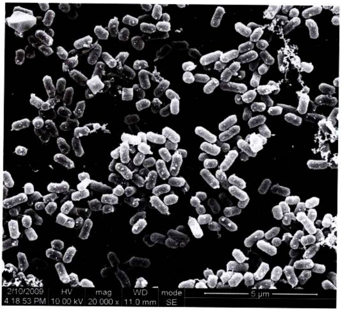


图 2-246　牙髓卟啉单胞菌细胞（扫描电镜 ×20 000）

牙髓卟啉单胞菌大多数菌细胞为（0.4～0.6）μm×（1.0～2.0）μm 大小的杆状或球杆状。无芽胞、无动力。革兰染色阴性

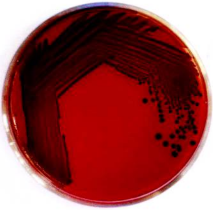


图 2-247　牙髓卟啉单胞菌菌落（BHI 血琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

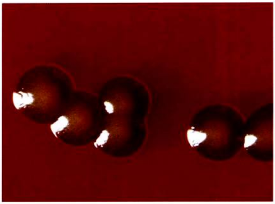


图 2-248 牙髓卟啉单胞菌菌落(体视显微镜 ×15)

牙髓卟啉单胞菌在血琼脂平板上形成圆形、有光泽、表面光滑、边缘整齐的菌落，培养 4~7d 后可见逐渐变深的黑褐色或黑色色素(血红素是主要的卟啉产物)。大多数菌株形成在血琼脂表面附着力强的菌落，但在液体培养基中生长缓慢

第五节 螺 旋 体

螺旋体科(*Spirochaetaceae*)是一类细长、弯曲呈螺旋形，运动活泼的革兰阴性细菌。螺旋体科常见菌属有：螺旋体属(*Spirochaeta*)、脊螺旋体属(*Cristispira*)、密螺旋体属(*Treponema*)和疏螺旋体属(*Borrelia*)。

密螺旋体属(*Treponema*)

密螺旋体属是口腔的常驻菌，与人口腔牙周炎、种植体周炎的病因学有密切关系。在口腔中检出的密螺旋体有齿垢密螺旋体(*T. denticola*)、曲齿密螺旋体(*T. scaliodontum*)、大齿密螺旋体(*T. macrodentium*)、口腔密螺旋体(*T. oralis*)、中间密螺旋体(*T. intermedia*)、嗜麦芽糖密螺旋体(*T. maltophilum*)、索氏密螺旋体(*T. socranskii*)和文氏密螺旋体(*T. vincentii*)。此外，肠道和阴道也是密螺旋体在人体栖息的生态部位。

临床样本中的密螺旋体用暗视野或相差显微镜观察效果较为理想。

密螺旋体细胞革兰染色为阴性，但大多数菌种用革兰染色和姬姆萨染色均不易着色，银浸渍染色法和 Ryu 染色法的效果较好。目前常用的刚果红负性染色法不仅经济简便，而且螺旋体细胞非常清晰，易于观察鉴别(图 2-249)。在扫描电镜下可见清晰的菌体形态(图 2-250 和图 2-251)。

密螺旋体的细胞外膜类似革兰阴性菌细胞的外膜，其成分包括脂质、蛋白质和碳水化合物。脂质主要是磷脂和糖脂，细胞壁含有胞壁酸、葡萄糖胺和鸟氨酸，肽聚糖(黏肽)占细胞干重质量的 10%。

密螺旋体为专性厌氧菌，但人的病原菌种可为微需氧菌。密螺旋体为化能异养菌，发酵型代谢，可利用多种碳水化合物和氨酸基作为碳源和能量。密螺旋体在人工培养基和组织培养基中很难生长，一些菌种的生长要求血清中的长链脂肪酸，而另一些菌种则要求支链脂肪

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

酸。齿垢密螺旋体、文氏密螺旋体和曲齿密螺旋体的生长要求在血清中加入辅羧酶。

密螺旋体 DNA 的 G+C 摩尔分数为 25%～54%（*Tm* 法）。

模式种是苍白密螺旋体（*T. pallidum*）。



图 2-249　菌斑样本中的螺旋体细胞（刚果红负性染色）

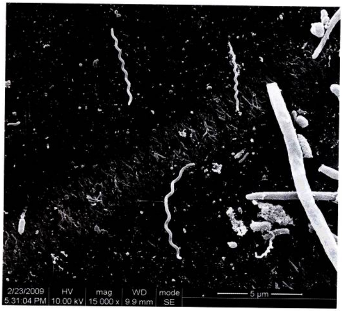


图 2-250　菌斑样本中的大、中、小螺旋体细胞（扫描电镜 × 15 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-251　菌斑样本中的密螺旋体和疏螺旋体细胞（扫描电镜 × 10 000）
密螺旋体属细胞为(0.1～0.4)μm×(5～20)μm 大小的螺旋形杆状，具有紧密的、规则或不规则的螺旋。细胞有一根或多根轴丝插入原生质圆柱体的两端。在陈旧的培养物中可见巨泡和螺旋形球体。临床样本中可见大小差异不一的大、中、小螺旋体。疏螺旋体属的螺旋形细胞大小是(0.2～0.5)μm×(3～20)μm，具有疏松的规则或不规则的螺旋。革兰染色为阴性

第六节　其他口腔微生物

一、真　　菌

假丝酵母菌属(*Saccharomyces*)属于真菌门、隐球酵母菌科，又称白色念珠菌(*Candida*)。白假丝酵母菌(*S. albicans*)、热带假丝酵母菌(*S. tropicalis*)、光滑假丝酵母菌(*S. candidaglabrata*)、近平滑假丝酵母菌(*S. parapsilosis*)、克鲁斯假丝酵母菌(*S. krusei*)、吉利蒙假丝酵母菌(*S. guillermondii*)、都柏林假丝酵母菌(*S. dulbilin*)在口腔中检出，最常见的是白假丝酵母菌。

假丝酵母菌是正常人口腔、胃肠道、呼吸道及阴道黏膜的常见共生菌，仅能在特定的条件下造成对宿主的感染，故为条件性致病菌。

菌体为圆形或卵圆形，由细胞壁、细胞膜、细胞质及细胞核组成。以出芽方式繁殖，称为芽生孢子。孢子伸长成芽管，不与母菌体脱离，形成较长的假菌丝。

白假丝酵母菌

白假丝酵母菌是口腔最常见的真菌，在成人健康口腔的检出率可达 30%～35%，在新生儿的口腔中亦有较高的检出率。该菌在口腔的主要定植部位是口腔黏膜（颊黏膜、硬腭等）、唾液、口腔矫治器及托牙基托等。白假丝酵母菌在口腔可引起急性或慢性口腔假丝酵母菌病，如伪膜性或假膜性假丝酵母菌病（俗称雪口）、义齿性口炎、假丝酵母菌性白斑。口腔黏膜

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

白假丝酵母菌和其他口腔假丝酵母菌感染，常常是艾滋病患者最先发生的继发性感染和口腔表征。

菌细胞为大的球形，革兰染色阳性（图 2-252）。扫描电镜下可见增殖出芽菌细胞（图 2-253 和图 2-254）。其他菌种的细胞分别见图 2-255、图 2-256 和图 2-257。

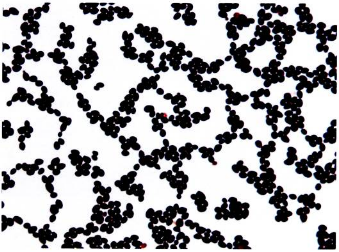


图 2-252　白假丝酵母菌细胞（革兰染色）

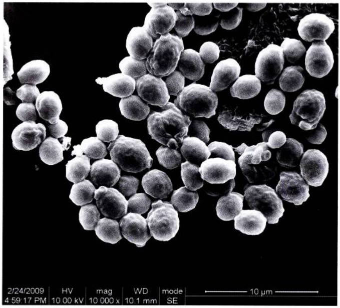


图 2-253　白假丝酵母菌细胞（扫描电镜，× 10 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-254 白假丝酵母菌细胞（扫描电镜，×20 000）

白假丝酵母菌细胞为 2×4mm，圆形或卵圆形，革兰染色阳性。扫描电镜下可见菌细胞的出芽生长

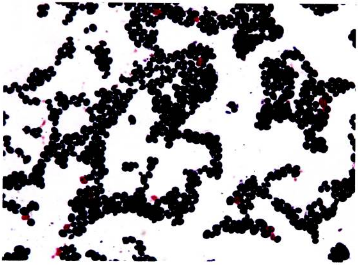


图 2-255 热带假丝酵母菌细胞（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

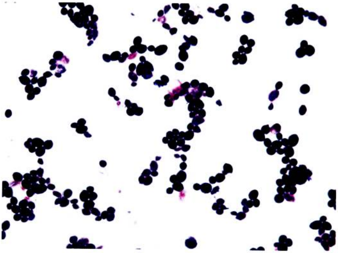


图 2-256　光滑假丝酵母菌细胞（革兰染色）

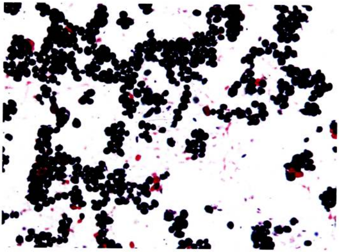


图 2-257　克鲁斯假丝酵母菌细胞（革兰染色）

需氧微生物，其生长温度是 30～37℃，通常需孵育 24～48h。沙保培养基是常规的培养基（图 2-258、图 2-259 和图 2-260）。CHROMagar Candida 琼脂是目前常用的选择培养基，不同菌种的菌落在此培养基表面，呈现不同的颜色并以此鉴别菌种，临床样本见图 2-261。白假丝酵母菌的菌落见图 2-262、图 2-263；热带白假丝酵母菌的菌落见图 2-264；光滑白假丝酵母菌的菌落见图 2-265、图 2-266；克鲁斯假丝酵母菌的菌落和细胞见图 2-267、图 2-268。

白假丝酵母菌菌种的鉴别常常采用芽管形成实验（图 2-269、图 2-270）和厚膜孢子形成实验（图 2-271、图 2-272、图 2-273）。

可发酵葡萄糖、麦芽糖和蔗糖产酸，但不发酵乳糖。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-258　白假丝酵母菌菌落(沙保琼脂)

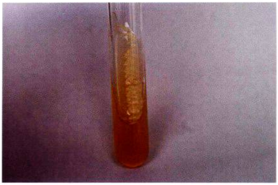


图 2-259　白假丝酵母菌菌落(沙保斜面琼脂)



图 2-260　白假丝酵母菌菌落(沙保琼脂，体视显微镜 ×30)

白假丝酵母菌在沙保培养基上生长良好，形成奶白色、表面光滑、较软的酵母样菌落，并可闻到酵母香味。延长孵育时间后，可形成表面不光滑、呈蜂窝状或皱褶的粗糙型菌落

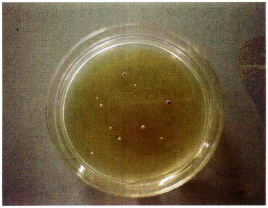


图 2-261　口腔黏膜样本中分离的白假丝酵母菌(CHROMagar Candida 琼脂)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

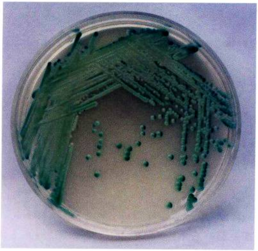


图 2-262　白假丝酵母菌绿色菌落（CHROMagar Candida 琼脂）

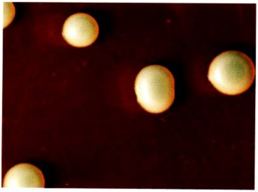


图 2-263　白假丝酵母菌菌落（CHROMagar Candida 琼脂，体视显微镜 × 15）

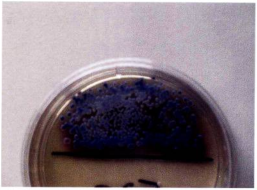


图 2-264　热带假丝酵母菌蓝色菌落（CHROMagar Candida 琼脂）

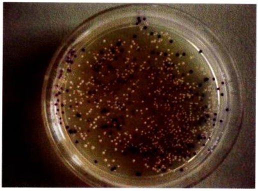


图 2-265　光滑假丝酵母菌紫色菌落（CHROMagar Candida 琼脂）

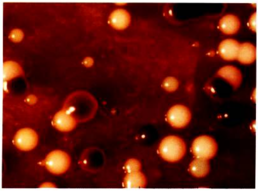


图 2-266　光滑假丝酵母菌紫色菌落（CHROMagar Candida 琼脂，体视显微镜 × 15）



图 2-267　克鲁斯假丝酵母菌粉红色菌落（CHROMagar Candida 琼脂）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

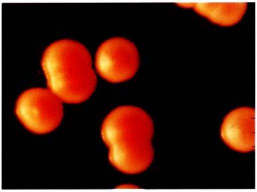


图 2-268 克鲁斯假丝酵母菌粉红色菌落
（CHROMagar Candida 琼脂，体视显微镜 × 15）

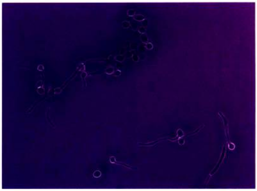


图 2-269 白假丝酵母菌的芽生孢子和芽管
（结晶紫染色）

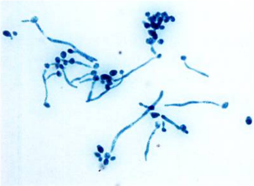


图 2-270 白假丝酵母菌的芽生孢子和芽管
（乳酸酚棉蓝染色法）

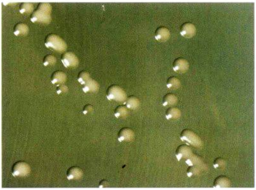


图 2-271 白假丝酵母菌菌落
（1% 吐温玉米粉琼脂）

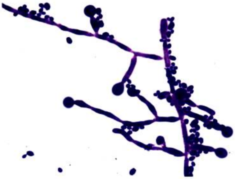


图 2-272 白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子
（1% 吐温玉米粉琼脂，结晶紫染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

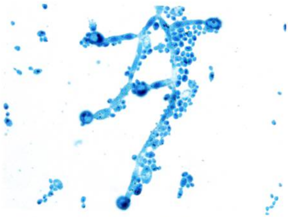


图 2-273　白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子
（1% 吐温玉米粉琼脂，乳酸酚棉蓝染色法）

二、支　原　体

支原体（*Mycoplasma*）是能独立生活的、没有细胞壁的、最小的原核细胞型微生物，可从正常人和动物呼吸道黏膜上分离出，在口腔中可分离的有肺炎支原体（*M. pneumoniae*）、口腔支原体（*M. oralis*）、唾液支原体（*M. salivalis*）、人型支原体（*M. nominis*）。

支原体是原核生物中最小的一类，见图 2-274 和图 2-275。

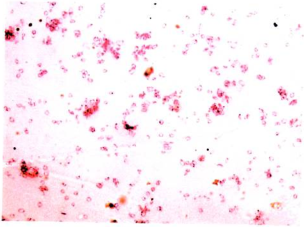


图 2-274　肺炎支原体细胞（革兰染色）

肺炎支原体的指环状细胞为革兰阴性，其大小为 0.2～0.3μm，一般不超过 1.0μm。支原体无细胞壁，细胞的最外层细胞膜由蛋白质与脂质组成。细胞呈明显的多形性，球形、杆状、棒状和丝状均可见，典型的细胞呈指环状。革兰染色为阴性，姬姆萨染色呈淡紫色

支原体的营养要求一般较细菌高。在含牛心浸液和 10%～20% 马血清的类胸膜肺炎微生物（pleuropneumonia like organism，PPLO）琼脂上可生长，而血清可提供支原体生长所需的胆固醇和长链脂肪酸。支原体生长的最适 pH 值为 7.8～8.0，pH 值低于 7.0 时则死亡。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 2-275 肺炎支原体的指环状细胞(姬姆萨染色)
姬姆萨染色的肺炎支原体指环状细胞呈紫色

支原体为需氧或兼性厌氧微生物,通常在有氧条件下生长更好。初代分离时的最佳生长环境是含5% CO_2的大气条件或5% CO_2和95% N_2的厌氧条件。培养时间一般要求7～14天。

支原体菌落很小,需要在低倍显微镜或解剖显微镜下观察,菌落特征见图2-276和图2-277。

支原体与L型细菌的相似性包括:①二者均缺乏细胞壁,致形态呈多形性;②均可通过滤器。支原体与L型细菌的主要区别:①支原体是一种独立的微生物,L型细菌是细菌的变异型而并非一种独立的微生物,所以在消除诱导因素并经传代培养后,大多数L型细菌可产生返祖变成原菌;②支原体的生长需要胆固醇(即要求培养基中补充10%～20%的血清),而L型细菌的生长则不要求胆固醇;③L型细菌菌落经Diane染色后易褪去蓝色,而支原体则不易褪色。

支原体多定植于口腔的咽喉部、牙菌斑和牙石中,肺炎支原体是急性呼吸道感染的常见病原之一。虽然已有的研究报道称支原体可从根管感染、牙龈炎和牙周炎的临床标本中检出,在口腔的分布及致病性研究尚待继续。

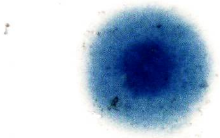


图 2-276 肺炎支原体的煎蛋状菌落(×100)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频,微信公众号里搜索qzkqsp1(茄子口腔视频1首字母)即可关注

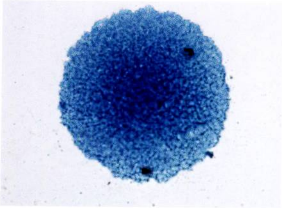


图 2-277　肺炎支原体的桑椹形菌落(×400)

支原体的典型菌落呈煎蛋状，肺炎支原体的煎蛋状菌落直径约 10～15μm、中央圆而不透明，并伸入培养基中，边缘扁薄，形成透明或半透明区。支原体的其他特征性菌落，如肺炎支原体的桑椹形菌落，口腔支原体和唾液支原体在半固体培养基中（多在培养基的中下层）形成的肉眼可见的彗星状菌落

三、病　　毒

单纯疱疹病毒

疱疹病毒是一群中等大小、有包膜的 DNA 病毒，现已发现有 100 种以上。与人类口腔黏膜感染有关的疱疹病毒有单纯疱疹病毒、水痘 - 带状疱疹病毒、巨细胞病毒、EB 病毒等 4 种，他们的共同特点是病毒呈球形，中心是由双链线性 DNA 组成的核心，其外的核衣壳是由 162 个壳微粒组成的立体对称 20 面体，核衣壳的外周有一层脂蛋白包膜。病毒的外周直径为 150～200nm。

单纯疱疹病毒（herpessimplexvirus，HSV）是疱疹病毒的典型代表，可引起皮肤或黏膜的水疱性损害，是人类极其常见的一种病毒。据有关研究表明，人群中有 30%～90% 的人血中有抗单纯疱疹病毒的抗体存在，说明他们已感染或正感染此种病毒。单纯疱疹病毒易侵袭来源于外胚叶的组织，如神经系统、皮肤、黏膜等。

HSV 为 DNA 病毒，具有疱疹病毒典型的 20 面体球形结构，由核心、衣壳和包膜三部分组成。核心为双链 DNA，含有 HSV 的所有遗传信息。它由长、短两个片段通过共价键相连，长片段约占 82%，短片段约占 18%。核酸分子中 G+C 摩尔分数较高，约为 68%。衣壳由壳微粒组成，每个衣壳子粒为 9.5nm×12.5nm 大小，中间有 4nm 的孔。包膜为富含蛋白多糖与脂蛋白的脂性结构，其中含有 HSV 的 6 种抗原成分：gB，gC，gD，gE，gG，gH。

在人群中，HSV 感染非常普遍，病人及健康带毒者为传染源。口腔单纯疱疹病毒的传染主要是通过飞沫或接触了含 HSV 的唾液、患者的疱疹液所致，胎儿还可经产道感染。在口腔白斑病组织、口腔鳞癌组织中均检测到 HSV 存在的证据，从而支持了 HSV 可能是口腔癌前病变和鳞癌发生的重要诱因的推论。HSV 病毒在 vero 细胞中的增殖见图 2-278 和图 2-279。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

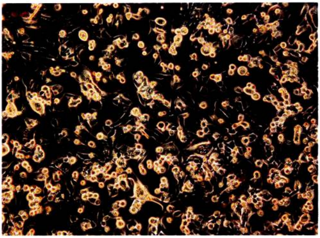


图 2-278　HSV 病毒在 vero 细胞中增殖（倒置显微镜 ×400）

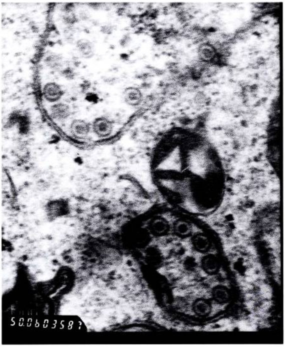


图 2-279　HSV 病毒在 vero 细胞中的增殖（透射电镜 ×100 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

第三章

实验技术

第一节　涂片染色技术

涂片检查法和染色法是微生物鉴定的基础实验，主要用于微生物细胞的形态学检查。直接涂片检查法与染色法的联合应用技术在口腔微生物研究中应用十分广泛，主要用于检查临床样本中的螺旋体，细菌、真菌和原虫，以及检查微生物的特殊结构，如芽胞、荚膜和鞭毛等。目前，常用的细胞形态学检查方法包括直接涂片检查法和涂片染色检查法，如革兰染色法、刚果红负性染色检查法等。涂片程序见图 3-1。

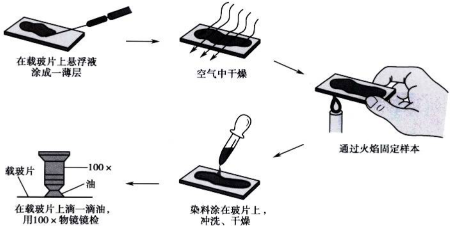


图 3-1　细菌涂片程序

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

一、Kopeloff 改良革兰染色法

革兰染色法是细菌和真菌鉴定最常用的染色方法，不仅种类繁多的细菌通过革兰染色法被分为革兰阳性细菌和革兰阴性细菌，而且多数临床厌氧菌可通过革兰染色法观察其有鉴别意义的细胞形态。此外，支原体的指环状细胞也可通过革兰染色法检查。美国 VPI 实验室推荐的一种改良的革兰染色法：Kopeloff 改良革兰染色法，经笔者多年使用证明该法不仅操作简便快速而且染色效果较常规革兰染色法更佳。

（一）原理

革兰染色法的原理以不同的认知被诠释，包括等电点学说、化学学说和通透性学说等。被多数学者认同的通透性学说认为经加热固定的细菌涂片用结晶紫液染色后，可与可溶性的碘液形成不可溶性的结晶紫 - 碘复合物，在用丙酮 - 乙醇液脱色时，革兰阳性菌因有一厚的细胞壁，其中含有大量的高度交联的肽聚糖和少量的脂类，其通透性较低致结晶紫 - 碘复合物不易被溶解脱色而呈紫色；反之，革兰阴性菌的细胞壁较薄，脂类含量较高而肽聚糖含量少，脂类物质易被乙醇溶解至其通透性增高，结晶紫 - 碘复合物也被溶解脱色染色呈红色。

（二）染色液的配制

1. 碱性结晶紫液（包括甲液和乙液）　甲液（10g 结晶紫溶解于 1 000ml 蒸馏水中混匀）；乙液（50g $NaHCO_3$ 溶解于 1 000ml 蒸馏水中混匀）。

2. 革兰碘液　取 4g NaOH 溶解于 25ml 蒸馏水中，再加入 20g 碘和 1g 碘化钾；待碘和碘化钾溶解后慢慢加入 975ml 蒸馏水，边加边摇使其充分混合后贮于棕色瓶中。

3. 丙酮 - 乙醇脱色液　取 300ml 丙酮加入 700ml 95% 的乙醇溶液中，充分混匀。

4. 稀释复红染液　取 5～10g 碱性复红溶于约 100ml 95% 的乙醇溶液中，配制成碱性复红乙醇饱和溶液，再取上述饱和溶液 10ml 与 5% 的石炭酸水溶液 90ml 混合，最后加入蒸馏水 900ml 充分摇匀后用滤纸过滤（沙黄染液可代替稀释复红液作为复染液：称取 20g 沙黄置于 100ml 的 95% 乙醇液中，使其溶解后加蒸馏水至 1 000ml 即成）。目前已有市售的革兰染色液。

（三）染色方法

革兰染色法的操作步骤见图 3-2。

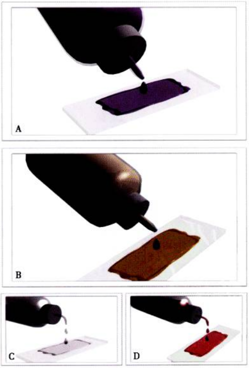


图 3-2　革兰染色法的步骤

A. 将结晶紫甲液滴加并布满在经固定的细菌涂片上，约 5 秒后加上结晶紫乙液并轻轻摇动玻片使甲液和乙液混合染 30 秒；B. 用水冲去染色液加革兰碘液染 30 秒，用水冲净涂片上的碘液；C. 用丙酮 - 乙醇脱色液脱色，轻轻摇动玻片约 5～10 秒，直至结晶紫色褪掉，用水冲去脱色液；D. 加稀释复红液或沙黄液复染 5～10 秒，用水冲掉复染液，待玻片干燥

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（四）结果观察

涂片放置显微镜下，用油镜观察细菌细胞的形态及染色性：紫色为革兰阳性（见图 3-3 和图 3-4）；红色为革兰阴性（见图 3-5 和图 3-6）。

（五）注意事项

涂片不宜过厚，固定不宜过热；脱色时间可视涂片厚薄增减；革兰阳性细菌的老龄菌细胞容易染成阴性。



图 3-3　内氏放线菌（革兰染色）



图 3-4　白假丝酵母菌（革兰染色）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

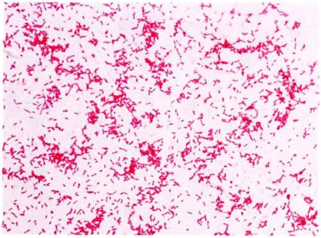


图 3-5　啮蚀艾肯菌(革兰染色)

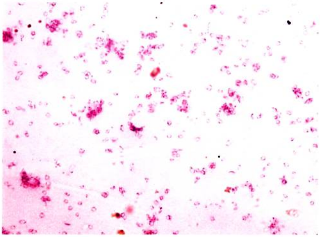


图 3-6　肺炎支原体(革兰染色)

二、特殊染色法

微生物细胞的特殊结构要求特殊染色法染色后方能在镜下观察，如细菌细胞的芽胞、鞭毛和荚膜，真菌的菌丝和厚膜孢子等。

(一) 细菌芽胞染色法

细菌芽胞(Spore)的检测常用革兰染色法和复红美蓝染色法。

1. 革兰染色法　染色法同前，芽胞染色结果见图 3-7。

2. 复红美蓝染色法　染色液的配制：①石炭酸复红液：取碱性复红 5～10g 置于 100ml 95% 的乙醇液中，配制成碱性复红乙醇饱和液。取上述饱和液 10ml 与 5% 的石炭酸水溶液 90ml 混合即成。②碱性美蓝溶液：取美蓝 0.3g 溶于 30ml 95% 的乙醇液中(甲液)，另取 0.01g 氢氧化钾溶于 100ml 蒸馏水中(乙液)，将甲液和乙液混合均匀即成。③脱色液(95% 的乙醇)。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 3-7 枯草杆菌芽胞(革兰染色)
油镜下细菌芽胞为不着色的、折光性很强的圆形或卵圆形体，位于细菌细胞中央(中生芽胞)或端极(端生芽胞)

染色步骤：在已固定的样本涂片上滴加石炭酸复红液，使染液布满涂片，放于火焰上加热并保持有蒸气形成(勿煮沸烧干，必要时可滴加染色液)，维持 3～5min，待冷后用水冲掉染色液；用 95% 的乙醇脱色液脱色 1min 左右，用水冲尽脱色液；用碱性美蓝液染色 0.5min，水冲洗，待干后使用油镜观察。

芽胞染色结果见图 3-8。

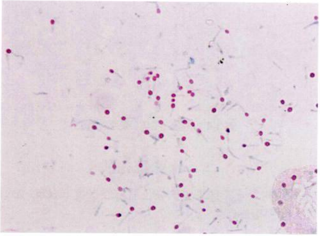


图 3-8 破伤风梭菌芽胞(复红美蓝染色)
细菌细胞染成蓝色，细菌芽胞染成红色。破伤风梭菌的正圆形芽胞位于菌体顶端，使菌细胞呈典型的鼓槌状

(二) 细菌荚膜染色法

细菌荚膜的检测可采用多种染色方法，如 Murs 染色法、墨汁美蓝染色法、Hiss 硫酸酮荚膜染色法和奥特沙黄荚膜染色法等。口腔中可检测到荚膜的细菌有肺炎链球菌、牙龈卟啉单胞菌等。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

1. Murs 染色法　染色液的配制：①初染液（石炭酸复红液）：取碱性复红 1g 置于 10ml 95% 的乙醇液，再加 5% 的石炭酸水溶液 40ml 混合即成。②媒染液：20% 鞣酸 100ml、10% 钾明矾（$K_2SO_4 \cdot 12H_2O$）250ml、7% 饱和升汞 100ml。③复染液（碱性美蓝溶液）：取美蓝 0.3g 溶于 30ml 95% 的乙醇液中，再加 0.01% 氢氧化钾液 100ml。④脱色液（95% 的乙醇）。

染色步骤：按常规方法用生理盐水制作样本涂片并固定，石炭酸复红液加热染 1min，95% 的乙醇脱色后用水冲洗，媒染液染 0.5min，再用 95% 的乙醇脱色 0.5min，用碱性美蓝溶液染 0.5min 后用水冲去染色液，待其干后镜检。

结果观察：见图 3-9。

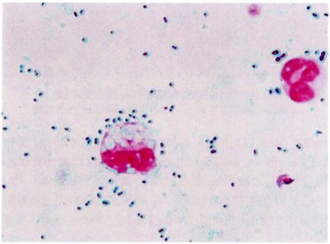


图 3-9　肺炎链球菌的荚膜（Murs 染色）

细菌细胞呈红色，细胞周围的荚膜为蓝色透明圈

2. 瑞特（Wright）染色法　细菌荚膜的染色也可使用瑞特染色法。此外，瑞特染色法还可用于立克次体和螺旋体染色，立克次体和螺旋体呈紫红色。

染色液的配制：①瑞特染液（称 0.1g 干燥的瑞特染料，即美蓝 - 伊红 Y 染料，Eostm Y，置乳钵内用乳棒轻轻研磨成细粉末状，然后加入约 10ml 甲醇溶解研磨，直至无染料粉粒在乳缸内沉着，再加约 20ml 甲醇研磨并静置片刻后，将上层液体倒入清洁的储存瓶内或甲醇空瓶内，再加甲醇研磨并重复数次，0.1g 染料的甲醇总用量为 60ml，直至乳钵内的染料全部溶解为止，摇匀后密封瓶口置室温暗处储存。② pH6.4～6.8 磷酸盐缓冲液（1% KH_2PO_4 30ml，M/15 KH_2PO_4 73.5ml；1% Na_2HPO_4 20ml，M/15 Na_2HPO_4 26.5ml，新鲜 H_2O 加至 1 000ml）。

染色方法：按常规方法制片并待其自然干燥，滴加瑞特染液 4～6 滴，染色 1min，再加等量的 pH6.4～6.8 缓冲液，轻摇玻片使其与染液混匀，静置 6～8min 后用水冲洗。涂片呈粉红色（如涂片呈蓝紫色可用 20% 甲醇盐酸溶液脱色）。

结果观察：见图 3-10。

（三）细菌鞭毛染色法

鞭毛染色法用于观察细菌是否有鞭毛，以及鞭毛的数量和位置，有助于鉴别细菌。鞭毛染色对口腔可动菌的鉴别具有重要意义，如月形单胞菌的鞭毛可多达 16 根，直形弯曲菌仅有 1 根极生鞭毛。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

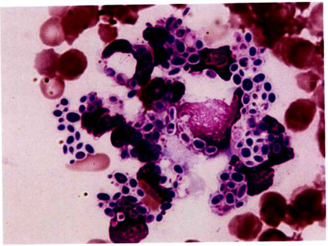


图 3-10 组织荚膜胞浆菌的荚膜(瑞特荚膜染色)
菌细胞的胞浆为淡蓝色，细胞周围的荚膜为无色透明圈

1．染色液的配制 甲液(20ml 加温溶解的 20% 钾明矾水溶液，20ml 水浴加热溶解的 20% 鞣酸溶液，以及 50ml 的 5% 石炭酸水溶液混合)；乙液(即碱性复红乙醇饱和液，见革兰染色液配制)。取甲液 90ml、乙液 10ml 混合后过滤，滤液于室温放置 6～10h 后使用最佳。

2．涂片制备 鞭毛染色要求正确制备涂片。挑取离原划线最远的幼龄琼脂培养物少许，混悬于盛有无菌蒸馏水的小管中；将小管于室温放置 20～30min，或置 37℃孵育箱中 4～5min，使小管中的培养物自行分散。用接种环取一环已分散的细菌悬液轻放在一洁净的玻片上，微微侧动玻片或用接种环推开细菌悬液制成薄的涂片，在室温自然干燥或在 37℃孵育箱内干燥。

3．染色步骤及结果观察 将甲液和乙液的混合液加在已干燥的涂片上，染色 1～2min 后用水冲洗，待其干后置油镜下观察其结果(图 3-11)。

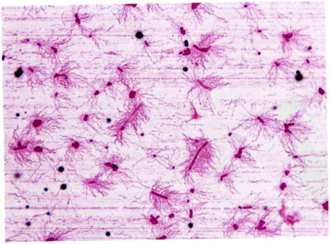


图 3-11 变形杆菌的周鞭毛(鞭毛染色)
菌细胞呈红色，淡红色的鞭毛位于菌体的四周

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（四）真菌细胞特殊结构染色法

革兰染色法和乳酸酚棉蓝染色法常常用于检查真菌的一些有鉴别意义的结构，如牙管、菌丝和孢子，特别是用于与口腔黏膜病临床，如鹅口疮、口角炎密切相关的白假丝酵母菌的鉴定。检查标本多取材于口腔黏膜的白膜及病灶分泌物。

1．结晶紫染色法　结晶紫染色液的配制见革兰染色方法中革兰甲液。取少许培养物用生理盐水制成涂片后，用结晶紫染液染色后在油镜下观察结果（图 3-12 和图 3-13）。

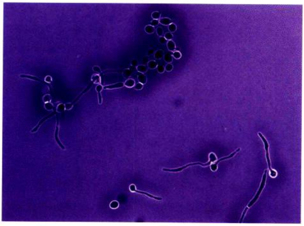


图 3-12　白假丝酵母菌的芽管和芽生孢子（结晶紫染色）

白假丝酵母菌在 0.5～1ml 正常人或羊血清中，37℃孵育 2～4h 后，通过结晶紫染色可见清楚的染成紫色的牙管和牙生孢子



图 3-13　白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子（结晶紫染色）

假菌丝和厚膜孢子均染成紫色。厚膜孢子大而圆、壁厚，位于着色不均匀的假菌丝的顶端或侧壁

2．乳酸酚棉蓝染色法　染色液的配制：取石炭酸（结晶品）20g，乳酸 20ml，甘油 40ml 溶解于 20ml 蒸馏水中（可微微加热），再加入棉蓝（Cotton blue）0.05g，摇匀后用滤纸过滤，保存备用。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

染色步骤及结果观察：在洁净的玻片上滴加乳酸酚棉蓝染液 1 滴，将待测的真菌培养物或临床样本与染液混合，加盖玻片并稍加热，再轻压盖玻片除去气泡后用油镜观察（图 3-14 和图 3-15）。

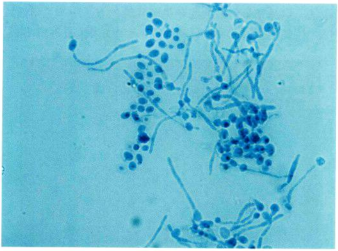


图 3-14　白假丝酵母菌的芽管和芽生孢子（乳酸酚棉蓝染色法）
白假丝酵母菌在 0.5～1ml 正常人或羊血清中，37℃孵育 2～4h 后，经乳酸酚棉蓝染色法可见清楚的染成亮蓝色的芽管和芽生孢子

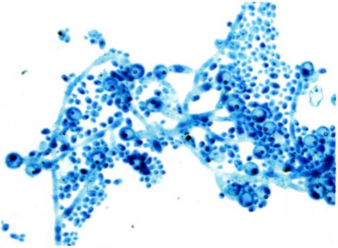


图 3-15　白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子（乳酸酚棉蓝染色法）
白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子均呈亮蓝色，大、圆形、壁厚的厚膜孢子位于假菌丝的顶端或侧壁

（五）支原体细胞的姬姆萨染色法

姬姆萨（Giemsa）染色法可用于支原体细胞的染色观察（图 3-16）。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

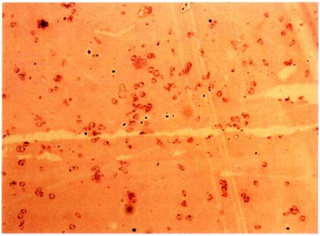


图 3-16　支原体细胞（姬姆萨染色）
支原体典型的指环状细胞染成淡紫色

三、菌斑细菌的刚果红负性染色法

刚果红负性染色法因操作简便、快速、涂片漂亮、结果易于观察等，近年来已广泛应用于牙周炎和其他口腔临床标本的细菌学检查，以及口腔微生物学教学。

1. 标本　唾液、牙菌斑及其他口腔分泌物等。

2. 染色液　2% 的刚果红水溶液。

3. 染色步骤　在一洁净载玻片的一端滴加 2% 的刚果红水溶液 1 滴，取待检标本与染液混合并用玻片推成均匀的薄片。待涂片自然干燥后置于浓盐酸瓶口的蒸汽上熏，直到涂片由红色变成蓝色即可。

4. 结果观察　将熏制好的蓝色涂片置于普通光学显微镜下，用油镜观察计数（图 3-17）。

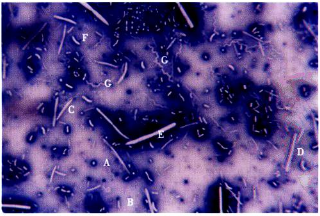


图 3-17　牙菌斑细菌（刚果红负性染色法）
涂片为蓝色背景，菌细胞形态各异，呈不着色的光亮白色。A：球菌；B：短杆菌
C：梭杆菌；D：长杆菌；E：丝杆菌；F：弯曲杆菌；G：螺旋体

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

※ Listgarten 分类法常用于菌斑细菌的刚果红负性染色法和暗视野显微镜检查。在镜下选择涂布均匀的视野，计数 200 个菌细胞并按其形态分类报告各类细菌的百分比。

球菌：菌细胞直径 0.5～1.0μm，包括少量球杆菌；

直杆菌：菌细胞宽 0.5～1.5μm，长 1.0～1.9μm，包括部分分支杆菌；

丝状菌：菌细胞宽 0.5～1.5μm，长与宽之比大于 6∶1，菌细胞多为不规则的长丝状杆菌；

梭状菌：菌细胞直径 0.3～1.0μm，长约 10μm，其末端呈梭状；

弯曲杆菌：菌细胞呈新月形或弯曲状；

螺旋体：菌细胞宽 0.2～0.5μm，长 10～20μm，呈螺旋形，包括大中小三种螺旋体。

四、原虫涂片检查法

口腔原虫主要包括牙龈阿米巴（Entamoeba gingivalis）和口腔毛滴虫（Treponema orale）。原虫涂片检查有新鲜标本湿片检查（观察其形状及活动性）和固定标本的姬姆萨染色检查（观察其构造）两种（图 3-18 和图 3-19）。

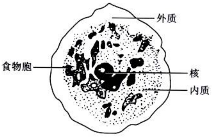


图 3-18　牙龈阿米巴滋养体示例

牙龈阿米巴滋养体的舌状伪足，可移行或活泼运动

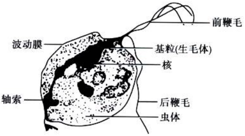


图 3-19　口腔毛滴虫滋养体示例

口腔毛滴虫的梨形滋养体虫体染成蓝色，核和鞭毛（4 根）染成红色

（一）新鲜标本湿片检查

取龈缘或龈下菌斑标本与少量生理盐水混合制成新鲜湿片，立即放置于显微镜下，观察细菌形状和活动性。口腔毛滴虫滋养体为活泼运动的梨形虫体，其活动力较阴道滴虫快。新鲜标本湿片检查最好在 20℃以上的室温下进行，并且在制片后 30min 内完成显微镜下观察，以免因室温过低或放置时间过长而影响对原虫活动力的观察。

（二）姬姆萨染色涂片检查

取一洁净玻片，用生理盐水将临床标本（如龈下菌斑标本）制成涂片，待干后用姬姆萨染色法染色并在油镜下观察结果。

第二节　分离培养和鉴定

口腔微生物不但数量多、种类复杂，并且不断有新的菌属和菌种被命名，以及原有菌种分类位置的变动，因此口腔微生物的分离鉴定存在一定的困难性，目前尚不能分离鉴定口腔样本中的所有细菌。微生物的表型鉴定是微生物研究最基本和最重要的内容，传统的鉴定方法是在获得纯培养物的基础上，观察其表型特征：包括菌落特征（大小、颜色、形状等）；细胞的

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

大小、形态、细胞的排列方式、染色性；有无芽胞、荚膜、鞭毛；培养特性（对氧的敏感性、最适生长温度和 pH 值、对营养物和生长因子的要求等）；代谢产物等。深入的鉴定则包括血清学、细胞学、分子生物学等实验技术。《Bergey's Manual Systematic Bacteriology》是细菌分类鉴定的权威工具书。

一、样本的采集和运送

（一）样本的采集

唾液样本的采集：唾液样本分为刺激性唾液和非刺激性唾液。刺激性唾液样本要求受检者咀嚼石蜡块或橡皮块以刺激唾液分泌，该法收集的唾液量较多，但对黏膜及菌斑菌群有一定的影响；非刺激性唾液由受检者自然分泌排出。微生物检查的唾液样本最好采用自然排出的非刺激的新鲜唾液。唾液标本采集的最佳时间是清晨起床后，刷牙洗漱之前或两餐之间（上午 10 点左右或下午 4 点左右）。样本采集前让受检者用温开水轻轻漱去口中的食物残渣，然后收集口腔自然排出的唾液，唾液量为 0.5～1ml，或用微量稀释器的无菌加样头直接在口腔吸取唾液样本。

菌斑样本的采集：菌斑微生物的组成复杂，需视其临床要求、研究目的，以不同的方式采集。必要时应用菌斑指示剂显示菌斑。咬合面沟裂和邻面牙菌斑样本：在采集样本前，让受检者用温开水漱口以去除口内食物残渣，然后用无菌纱托或纱球吸湿及隔湿的情况下采集牙菌斑样本或龋蚀材料。咬合面沟裂菌斑一般用无菌的探针采集，采集邻面菌斑标本则既可用探针也可使用牙线或正畸用的细钢丝；根面龋的菌斑样本可用无菌刮匙；龈上或龈缘菌斑样本采用无菌匙形器采集；龈下菌斑分为附着菌斑和非附着菌斑用可卸式 MooreOO 取菌器采集法或无菌纸尖采集法（是目前应用最为广泛和最简便的龈下菌斑采集方法）；感染根管样本的采集多使用无菌纸尖采样法。

其他感染样本的采集：唇痈等感染样本中以需氧菌和兼性厌氧菌如金黄色葡萄球菌为主要病原菌，一般采用无菌棉拭子采样；牙周脓肿脓液样本可采用无菌注射器采样；拔牙创干槽症的临床样本一般采集牙槽窝内创面的组织块。

口腔黏膜病标本：一般用刮器或棉拭子采取白膜材料，定量样本的采集可用一定面积的滤纸条采样。

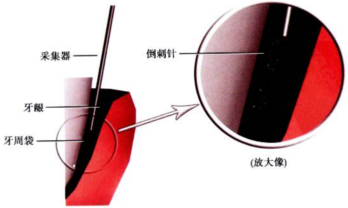


图 3-20　样本采集法

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（二）样本的运送

口腔临床样本中，真菌、需氧菌及一般兼性厌氧菌标本的检测可用棉拭子采样，直接用无菌试管送检。对大多数厌氧菌或微需氧菌的检测，要求样本在采集后用厌氧方式尽快送到实验室。除脓液标本或唾液样本可直接用针尖插入无菌的橡皮塞的注射器针筒运送外，大多数样本在采集后立即放入预还原的厌氧运送培养基送到实验室，以减少对氧敏感的细菌在运送过程中死亡。采用椅旁接种和厌氧运送可提高专性厌氧菌的检出率。

预还原培养基运送法是将采集样本立即置于盛有预还原运送液体培养基的带盖小管运送（图 3-21）。为了减少运送过程中氧气的渗入，可在运送液的表面加盖无菌液体石蜡以隔绝空气。常用的运送液有：①改良 Cary-Blair 培养基（主要成分有巯基乙醇酸盐 0.15g、新鲜的 1% $CaCl_2$ 0.9ml、蒸馏水 100ml）；② Ringer 稀释液（NaCl 0.9g、$CaCl_2$ 2g、H_2O 0.025g、KCl 0.04g、蒸馏水 100ml、还原剂 L- 盐酸半胱氨酸 0.01g、指示剂刃天青溶液 0.4ml）。

对不能及时送检或远距离运送的临床标本可使用厌氧袋（市售品）或加盖液体石蜡的预还原运送液螺旋小管运送。



A B C

图 3-21 样本的运送
A. 厌氧罐运送法 B. 注射器运送法 C. 还原液螺旋管运送法

（三）样本的分散和稀释处理

由于口腔临床感染多为多菌性的混合菌感染，不仅细菌种类多而且数量也多，加之多有集聚的菌斑团块，所以为取得单个菌落的纯培养，送检的口腔临床标本通常要求进行分散处理和稀释后再进行接种。

1. 样本的分散 一般采用旋涡振荡和超声分散两种方法。旋涡振荡法因操作简便快速和无需昂贵的仪器被广泛应用。将样本采集管放置于旋涡振荡器上振荡 10～20s 即可。在盛有运送液的无菌小管中加入 5～6 粒无菌的小玻璃珠（110～150μm），可提高分散的效果（图 3-22）。超声分散法较漩涡振荡法分散效果更佳，但缺点是要求配置价格昂贵的超声破碎仪，而且，螺旋体、卟啉单胞菌、普雷沃菌等革兰染色阴性细菌的菌细胞容易被破坏，使其检出率下降。操作过程难以避免因氧气的渗入，而致样本中的厌氧菌死亡。



图 3-22 样本的分散（旋涡振荡器）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

2. 样本的稀释　口腔临床样本多为混合菌感染样本，细菌的数量和种类较多，所以在样本分散处理后，要求稀释处理后取适当浓度的稀释液接种以获取单个的菌落。

可采用运送液作稀释液，也可用 pH 值为 7.2 的磷酸盐缓冲液作为样本稀释液。通常采用 10 倍系列稀释法，在无菌操作状态下，取 0.1ml 标本原液加入 0.9ml 稀释液中，充分混匀后再取 0.1ml 混合液(10^{-1})加入另一盛有 0.9ml 稀释液的小管中混匀，按上述方法依次作 10 倍系列稀释(见图 3-23)。由于样本细菌含量的差异，所以不同样本的稀释浓度不一，如唾液样本的稀释度为 10^{-4}～10^{-6}，龈沟菌斑则为 10^{-1}～10^{-2}，集合菌斑可为 10^{-3}～10^{-5}。

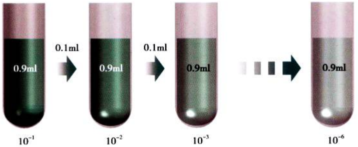


图 3-23　样本的稀释(10 倍系列稀释法)

(四) 标本的接种和孵育

接种前除选择适当的培养基外，还应根据标本种类、培养目的及微生物种类确立样本的接种稀释度、接种方法、孵育环境和时间等。

1. 培养基的选择　口腔菌群常用的基础培养基有牛心脑浸液(简称 BHI)培养基、胰酶水解物大豆琼脂(TSA)和 TPY 琼脂培养基等。这些基础培养基可用于培养口腔标本中的大多数细菌。对一些专性厌氧的革兰阴性无芽胞杆菌，则需在培养基中补充浓度为 5% 的脱纤维血(或 5% 血清)，以及氯化血红素和维生素 K_1。对于培养一般的需氧菌和兼性厌氧则使用普通的含血琼脂(简称 BA)。

2. 标本的接种　口腔临床细菌学样本通常采用倾注法、涂布法、滴注法和螺旋仪接种法，取适当稀释度的标本液，定量接种于琼脂平板上。

(1) 倾注平板法：操作步骤见图 3-24 所示。

(2) 涂布法：用微量稀释器取 10μl 适当稀释度的样本放在琼脂培养基表面，然后用无菌玻棒(三角推棒和 L 型推棒)将其均匀涂布于琼脂平板的表面。标本经孵育后细菌能形成单个菌落(图 3-25)。



图 3-24　倾注平板法的操作程序

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 3-25　涂布法的平板菌落(牙周袋样本)

(3) 滴注法：用微量稀释器取 25μl 或 50μl 适当稀释度的样本滴注于琼脂表面，待其干后放置孵育箱中孵育(图 3-26 和图 3-27)。

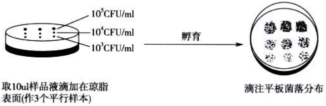


图 3-26　滴注法的接种程序

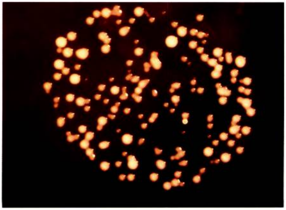


图 3-27　滴注法的平板菌落(唾液样本)

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

(4)螺旋接种仪法：螺旋接种仪是目前最为先进的活菌计数接种方法，样本液被自动稀释和划线接种于琼脂平板表面，经孵育后的细菌菌落沿螺旋形轨迹均匀生长（图 3-28），使样本中细菌菌落的观察和计数更加准确，详细内容见本章第四节有关内容。



图 3-28 螺旋仪接种法的平板菌落（菌斑样本）

3．样本的孵育 已接种临床样本的培养基将根据培养的要求决定其孵育条件，其中包括大气条件、温度、时间。以混合菌感染为主要特性的口腔临床标本，如感染根管、冠周炎、拔牙创感染、牙周炎的龈下菌斑标本等在分离培养时，由于各种微生物具有各自的特性，所以一般都可能涉及不同的大气条件和孵育时间。有的细菌要求在厌氧条件下孵育，而有的细菌则要求在有氧条件下孵育。诸如此类的要求提示：熟悉和掌握口腔细菌的生长特性，可以避免孵育中的失误。通常厌氧培养以含 80% N_2、10% CO_2、10% H_2 的大气条件最佳，温度为 36℃～37℃，时间 48～72h。一些口腔细菌如福赛斯坦纳菌、密螺旋体等则要求在厌氧环境中培养 1 周左右。常见的厌氧孵育装置有厌氧手套箱（图 3-29）、厌氧孵育箱、厌氧袋等。

对经孵育的初代细菌培养物，按照微生物的分离鉴定常规程序进行包括菌落和菌细胞形态及革兰染色的检查，然后进行次代纯化培养，进一步完成表现型和基因型的鉴定。对于其他微生物可采取特殊的分离培养及其他鉴定技术进行分离培养和鉴定。



图 3-29 厌氧手套箱

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（五）生长特性和鉴别

1. 生长特性　细菌菌落的表型特征包括菌落大小、颜色、形状，以及生长方式和特点等，产生溶血反应等是细菌鉴别的基本特征之一。一些细菌可产生溶血反应（图 3-30 和图 3-31）；一些细菌产生有鉴别意义的色素（图 3-32、图 3-33 和图 3-34）；一些细菌产生气体（图 3-35）一些细菌有其特殊的生长方式，如变形杆菌的迁移生长（图 3-36）。

2. 生化试验　生化试验是微生物鉴定的重要方法之一，常规的生化试验包括发酵碳水化合物（图 3-37）、甲基红试验（图 3-38）、枸橼酸试验（图 3-39）、硫化氢试验（图 3-40）。



图 3-30　β 溶血反应

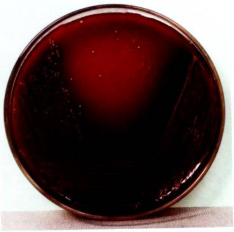


图 3-31　α 溶血反应

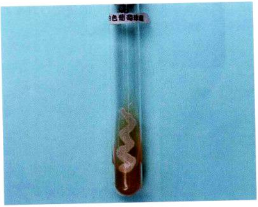


图 3-32　白色色素（表皮葡萄球菌）

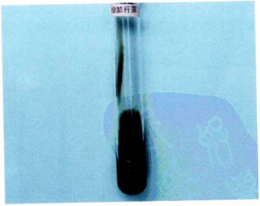


图 3-33　绿色色素（铜绿假单胞菌）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 3-34　黑色色素(牙龈卟啉单胞菌)

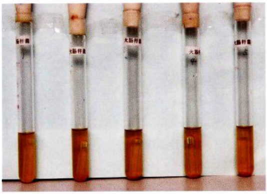


图 3-35　产生气体(大肠杆菌)



图 3-36　迁移生长(变形杆菌)



图 3-37　糖发酵试验

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

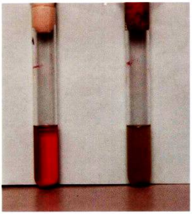


图 3-38　甲基红试验

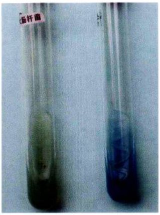


图 3-39　枸橼酸试验

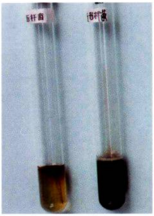


图 3-40　硫化氢试验

缩短对微生物鉴定的时间、降低成本，保证或增强对未知细菌的鉴定能力和鉴定的可靠性，是当前微生物鉴定的发展趋势。近年在国内外已有商品化的厌氧菌快速生化系统面市，其中最具代表性的是采用纸片底物的 Minitek 鉴定系统、采用干粉底物的 API-20A，以及采用原色物质的 PIZYMAN-IDENT 快速酶活性测定系统、RaPID-ANA 系统和完全自动化的微生物鉴定系统。

笔者经多年总结推广的一种反应板微量快速生化试验，利用细菌预成酶（preformedenzyme）反应原理，不仅大大简化了细菌生化试验的程序，缩短了鉴定的时间，降低了成本，特别适用于各种中小型实验室进行细菌生化试验鉴定。

反应板微量快速生化试验的生化鉴定系统包括 30 个生化试验基质与相关指示剂、磷酸盐缓冲液（PBS）、细菌标准浊度管以及 8 个鉴定系列。

表 3-1　微量生化鉴定系列一览

主　系　列	分　系　列
革兰阳性厌氧球菌系列	Ⅰ. 葡萄球菌和微球菌系列 Ⅱ. 链球菌系列
革兰阴性厌氧球菌系列	
革兰阳性无芽胞厌氧杆菌系列	
革兰阴性无芽胞厌氧短杆菌系列	Ⅰ. 不产黑色素系列 Ⅱ. 产黑色素系列
革兰阴性厌氧梭状或长杆菌系列	
革兰阴性兼性厌氧杆菌系列	
革兰阴性弯曲杆菌系列	
梭菌属系列	

结果观察：因实验种类不同存在一定差异，如七叶苷水解可直接观察结果：黑色为阳性，无色为阴性；糖、醇发酵产酸试验则需加 BM（溴麝香草酚蓝 - 甲基红，BTB-MR）指示剂显示其酸碱反应结果。呈红色或黄色为阳性反应，呈绿色或蓝色为阴性反应（图 3-41 和图 3-42）。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

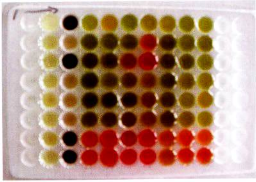


图 3-41 革兰阳性厌氧球菌系列Ⅱ（链球菌系列）（变异链球菌）

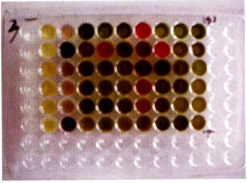


图 3-42 革兰阴性无芽胞厌氧短杆菌系列Ⅱ（产黑色素系列）（牙龈卟啉单胞菌）

（六）微生物分析鉴定仪

1. 螺旋接种仪 螺旋接种仪（图 3-43）是一种用于活菌计数的涂布平板法，其工作原理是使用凸轮传动的接种针将液体样品以螺旋线方式接种于旋转的培养基平板上，在从中心向周围运动的过程中，接种头每经过单位面积，接种体积自动减少，样品接种螺旋轨迹为阿基米德螺旋线，可以使用计数板人工计数或使用自动菌落计数仪自动计数。

螺旋接种仪自动化程度高、操作简便、具可重复性，明显提高了菌落计数的高效性和准确性，节约人力、时间和培养空间（图 3-44）。



图 3-43 WASP 螺旋接种仪



图 3-44 螺旋接种仪的平板菌落

在 9cm 平板接种后，样本会产生 1 000 倍的稀释效果，菌落在螺旋轨迹上形成，分布散在均匀

2. 微生物分析仪 微生物分析仪通过高清晰度数码相机摄取平板的图像，利用内置软件分析图像，自动给出菌落计数及抑菌环测量结果。可应用于自动进行菌落计数、抗生素敏感性测试的抑菌环测量、溶血环测定（图 3-45）。

特点是操作简单、快速，结果准确、重复性好；特殊的照明系统，适用于各种型号的琼脂

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

及平板。有强大的软件功能，生动的全彩色画面，在屏幕上可保存、打印图像，计数结果标示在图像旁边，自动记录结果。

3．微生物鉴定仪　MicroStation 自动微生物鉴定仪以微生物细胞利用不同碳源进行代谢过程中产生的酶与四唑类物质（如 TTC、TV）发生颜色反应和浊度差异为基础；运用独有的显型排列技术检测出每种微生物的特征指纹图谱，在大量试验和数学模型基础上，建立起指纹图谱与微生物种类相对应的数据库。检测时通过智能软件将待鉴定微生物的图谱与数据库参比，即可得出鉴定结果（图 3-46）。

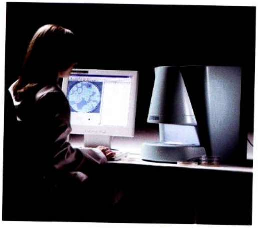


图 3-45　Protocol-SR 自动微生物分析仪



图 3-46　MicroStation 自动微生物鉴定仪

MicroStation 自动微生物鉴定仪不仅用于临床、食品、乳品、药品、化妆品、河流、海洋、植物、昆虫、动物的微生物鉴定，而且可用于微生物群落分析和生态研究，分析微生物对碳源的利用和代谢，设计有 4 种专门用于群落和生态研究的微孔板。

第三节　显微镜技术

一、体视显微镜技术

体视显微镜又称实体显微镜或解剖显微镜。是一种具有正像立体感的目视仪器。

体视显微镜的光学结构原理是由一个共用的初级物镜，对物体成像后的两个光束被两组中间物镜亦称变焦镜分开，并组成一定的角度称为体视角，一般为 12°～15°，再经各自的目镜成像，它的倍率变化是由改变中间镜组之间的距离而获得，利用双通道光路，双目镜筒中的左右两光束不是平行，而是具有一定的夹角，为左右两眼提供一个具有立体感的图像。

体视显微镜通过各种数码接口和数码相机、摄像头、电子目镜和图像分析软件组成数码成像系统接入计算机进行分析处理。

体视显微镜在使用前需要进行调校，包括调焦，视度调节，瞳距调节等，以便获得最佳的观察效果。

体视显微镜被用于微生物菌落形态学检查（图 3-47、图 3-48 和图 3-49），以及微生物生长及分布的观察（图 3-50、图 3-51、图 3-52、图 3-53、图 3-54 和图 3-55）。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

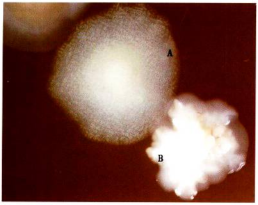


图 3-47　牙菌斑样本中的分离细菌

A：具核梭杆菌；B：衣氏放线菌（BHI 血琼脂，厌氧培养 48h，体视显微镜 ×15）

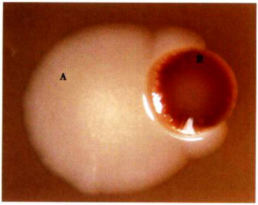


图 3-48　唾液细菌的菌落特征

A：口普雷沃菌（粉红色菌落）；B：龋齿放线菌（红色菌落）（BHI 血琼脂，厌氧培养 48h，体视显微镜 ×15）

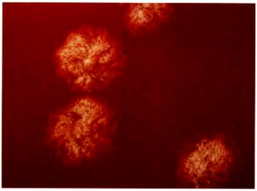


图 3-49　生痰二氧化碳嗞纤维菌的扩散生长菌落

（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×30）

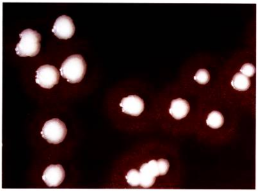


图 3-50　格氏链球菌的 α 溶血菌落

（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×30）

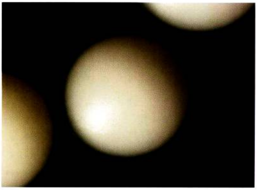


图 3-51　白假丝酵母菌菌落

（沙保琼脂，体视显微镜 ×30）

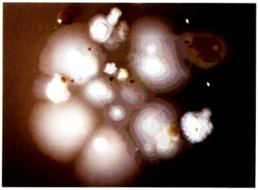


图 3-52　唾液样本的细菌菌落

（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×30）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注



图 3-53　龈缘样本的细菌菌落
（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×30）



图 3-54　龈下非附着菌斑的细菌菌落
（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×30）

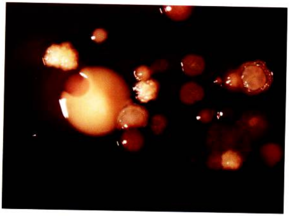


图 3-55　牙周袋内样本的细菌菌落
（BHI 血琼脂，体视显微镜 ×30）

二、扫描电子显微镜技术

扫描电镜主要用于观察样品的表面结构，可在很大的倍率范围内工作。扫描电镜样品适应性大，不需要制作超薄切片，因此样品制作简单。扫描电镜早已成为医学研究的一项常规手段，对于研究口腔细菌的形态及细菌之间的相互关系也是必不可少的工具。

扫描电镜可用来分析和正确地解释在一个微米或纳米范围内所发生现象，高端场发射扫描电镜的分辨率通常可达到约 1nm。扫描电镜的另一个重要特征是样品像的三维形态观察和分析，这是由大景深直接造成的，景深越大，提供的样品信息越多。以及检验和分析固体样品的显微结构特征。在微生物学鉴定中，扫描电镜被作为观察和检测微生物细胞表面形态和结构特征。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（一）原理

扫描电镜是用一束精细聚焦的电子照射需要检测的区域或需要分析的微体积，产生各种信号，其中包括二次电子、背散射电子、俄歇电子、特征 X 射线和不同能量的光子。当电子束在样品表面扫描时，这些信号是随表面新貌不同而发生变化。二次电子的发射局限于电子束轰击区附近的体积内，因而可获得相当高分辨率的图像，图像的三维形态起因于扫描电镜的大景深和二次电子反差的阴影起伏效果。

（二）操作流程

1. 细菌样本的准备　细菌于 37℃培养 48 小时后，经形态学及生化试验鉴定为纯培养物后，用 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 值为 7.2）配成菌悬液备用，或直接用小块盖玻片印取菌落。

2. 样品的清洁和固定　将样本用磷酸盐缓冲液或生理盐水清洗两次，然后用 2.5% 或 3% 的戊二醛固定 2h（4℃冰箱），再用磷酸盐缓冲液或生理盐水清洗两次。

3. 梯度脱水　用不同梯度的乙醇脱水，依次为 30% 乙醇 10 分钟；50% 乙醇 10 分钟；70% 乙醇 10 分钟；70% 乙醇 10 分钟；80% 乙醇 10 分钟；90% 乙醇 10 分钟；100% 乙醇 10 分钟两次。

4. 置换处理　脱完水的样本，放入 100% 乙酸正戊酯溶液中置换处理 20 分钟。

5. 临界点干燥　在 CO_2 临界点干燥机中进行 CO_2 临界点干燥。

6. 金属镀膜　干燥完的样本，用离子溅射仪喷金。

（三）结果观察

将已处理好的样本，放置于扫描电镜观察。作者使用 Inspect F 场发射扫描电镜进行口腔微生物细胞表面形态和结构特征的观察获得了大量珍贵的图片，现将部分图片展示如下。

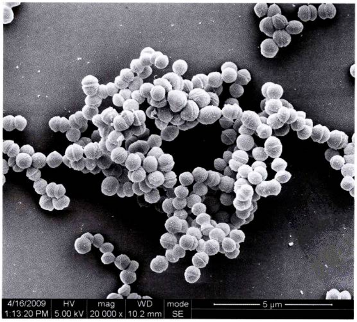


图 3-56　乙型溶血性链球菌的增殖细胞（扫描电镜，×20 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

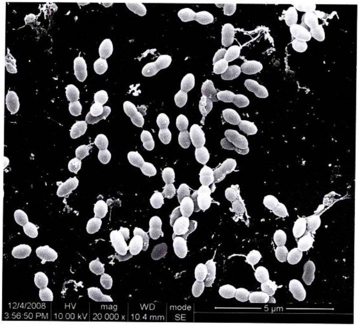


图 3-57 甲型溶血性链球菌细胞的分裂象（扫描电镜，×20 000）

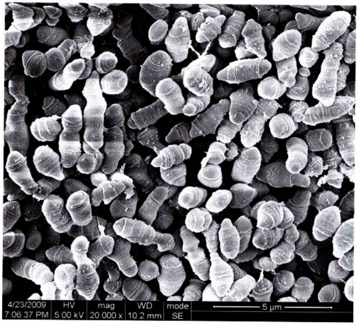


图 3-58 格氏链球菌的增殖细胞（扫描电镜，×20 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

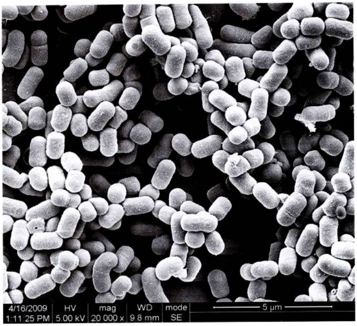


图 3-59　发酵乳杆菌细胞的增殖态（扫描电镜，×20 000）

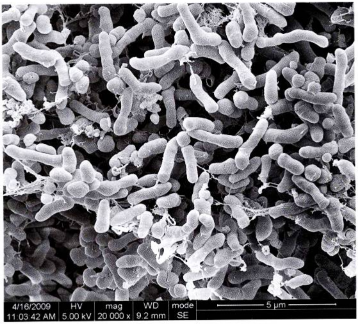


图 3-60　龋齿罗斯菌的自凝细胞（扫描电镜，×20 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

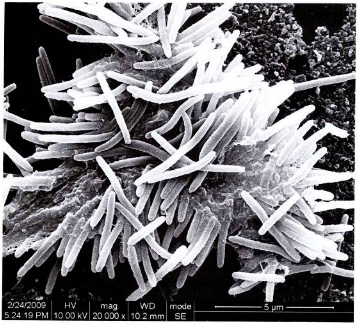


图 3-61　生痰二氧化碳噬纤维菌细胞的集聚（扫描电镜，×20 000）

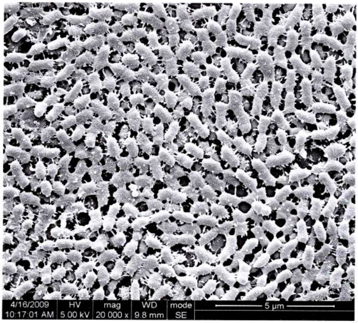


图 3-62　牙龈卟啉单胞菌细胞大量的胞外物质（扫描电镜，×20 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

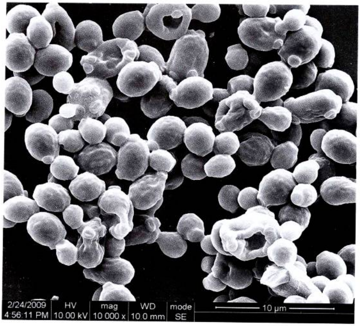


图 3-63　白假丝酵母菌的出芽细胞（扫描电镜，×10 000）



图 3-64　龈缘菌斑中的螺旋体（扫描电镜，×20 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

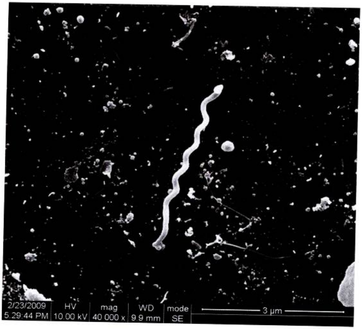


图 3-65　龈缘菌斑中的螺旋体（扫描电镜，×40 000）

三、透射电镜实验技术

透射电镜实验技术主要是通过超薄切片技术观察细胞的内部结构。

（一）细菌样本的制备

透射电镜观察口腔细菌需先将细菌培养物以 3 000r/min 离心 20 分钟，去上清液；细菌沉淀用生理盐水洗涤 3 次，分别加少量血清，3 000r/min 离心 20min 使细菌粘结，去上清液；将细菌放入 2.5% 的戊二醛（用二甲砷酸钠缓冲液配制）、二甲砷酸钠缓冲液漂洗后用 1% 的锇酸固定；在 4℃环境中依次用 50%、70%、90%、100% 的乙醇系列脱水后用环氧树脂包埋，制作超薄切片。

（二）切片

厚度在 10～100nm 的切片称为超薄切片。制作这种切片的技术称超薄切片技术，它包括取材、固定、漂洗、脱水、浸透、包埋聚合、切片、染色等一系列极其繁杂的过程。与光镜的石蜡切片相比较，其操作更为复杂精致，要求更为严格。

（三）铀染色

（四）镜下观察

专业人员在透射电镜下，通过超薄切片技术观察细胞的内部结构（图 3-66）。

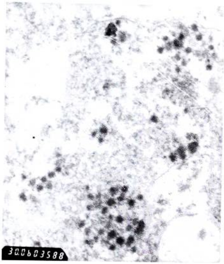


图 3-66　在 HEK293 细胞中的腺病毒（透射电镜，×100 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

四、激光扫描共聚焦显微镜

激光扫描共聚焦显微镜（confocallaserscanning microscope，CLSM）出现于20世纪80年代末，因其具有其他光学仪器所无法比拟的优点，如分辨率高、样品制备简单，可以对活细胞进行无损伤性动态记录，通过断层扫描、三维重建可以得到观察标本的立体图像，并对标本中的观察目标进行空间定位等，目前已广泛应用于几乎所有涉及细胞研究的医学和生物学领域（图3-67）。



图3-67　激光扫描共聚焦显微镜

（一）组成及基本原理

CLSM由显微镜光学系统、激光光源、检测系统和扫描装置4大部分组成。

成像的基本原理是激光器发出激光束，经过扩束透镜和光束整形镜变成一束直径较大的平行光束，长通分色反射镜使光束偏转90°，经过物镜会聚在物镜的焦点上（样品层面）；样品中的荧光物质在激光的激发下发射各个方向的荧光，一部分荧光经过物镜、长通分色反射镜、聚焦透镜会聚在聚焦物镜的焦点，再通过焦点处的针孔，由检测器接收。当激光逐点扫描样品时，针孔后的光电倍增管逐点获得对应光点的共聚焦图像，焦平面依次位于标本的不同层面上，可以逐层获得标本相应的光学横断面图像，即光学切片，再利用计算机的图像处理及三维重建软件，可以得到高清晰度的三维图像。在同一平面上随时间进行连续扫描，就可分析细胞的结构、内容和标记等的动态变化。CLSM的光路示意图见图3-68。

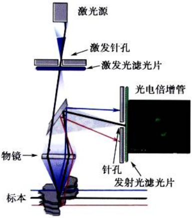


图3-68　激光扫描共聚焦显微镜光路示意图

（二）在牙菌斑生物膜的研究中的应用

通过特殊荧光染色后，用CLSM可以直接对完整自然水化状态的牙菌斑进行研究，不仅对牙菌斑生物膜中的死菌和活菌进行观察和定位，还可以研究牙菌斑生物膜形成中的细菌之

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

间的相互关系。CLSM 可以对一定厚度的生物膜进行连续断层扫描，获得单个细胞、一群细胞或局部组织的不同层面的精细图像，经三维重建后获得完整的牙菌斑立体结构（图 3-69）。

CLSM 可避免电镜研究牙菌斑生物膜组成和结构时的烦琐的操作步骤，以及标本经过脱水、固定、包埋、染色等一系列处理过程中生物膜的结构破坏等。

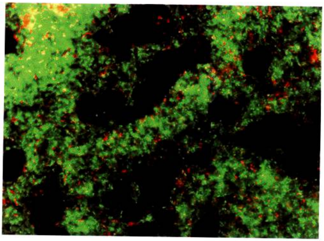


图 3-69　变异链球菌生物膜（激光扫描共聚焦显微镜）

此外，CLSM 可观察活细胞结构及特定分子、离子的生物学变化，可跟踪自然状态下或受某种因素刺激后活细胞的结构和生理过程随时间变化的情况；可测定细胞周长、面积、平均荧光强度等参数；能对细胞的溶酶体、线粒体、内质网、细胞骨架、结构性蛋白质 DNA、RNA 酶和受体分子等细胞内特异结构的含量、组分及分布进行定量、定性、定时及定位测定。能进行细胞生理信号的动态监测，利用荧光探针，CLSM 可对细胞内各种离子的含量及动态变化作毫秒级定时定量分析，较多的是对细胞内钙离子浓度及浓度变化的测量。

第四节　生态学技术

一、微生物生长曲线的测定

生长是微生物功能的一重要组成部分。在微生物学中生长一词被定义为细胞数目的增加，也就是说微生物生长与细胞数目增多有关，而不是单个细胞的增大。生长的速度是指单位时间内细胞数目和细胞总量的变化，微生物生长速率与生长周期密切相关。根据细菌群体细胞生长的特点，将其分为四个生长期：迟缓生长期、对数（或指数）生长期、稳定生长期和衰亡期。在不同生长周期，细菌的生长速率存在明显差异，通常用生长曲线表示细菌从生长开始到全部死亡的动态变化（图 3-70）。

（一）原理

将已知浓度的细菌液定量接种到定量的培养液中，在适宜的条件下培养后，细菌的生长数目在不同培养时间内出现动态的变化，以活菌数的对数为纵坐标，以不同培养时间为横坐标，绘制生长曲线。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

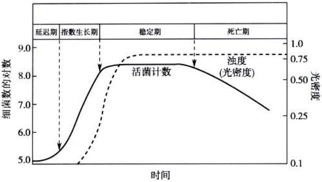


图 3-70 生长曲线示例

迟缓生长期(lag phase)：细菌分裂繁殖迟缓。对数生长期(logarithmic phase)：细菌生长迅速，活菌数目呈对数上升。稳定生长期(stationary phase)：细菌繁殖速度渐趋下降，死菌数逐渐上升。衰亡期(decline phase)：细菌的繁殖速度减慢至停止，死菌数迅速超过活菌数。细胞出现多形态的衰退型和肿胀自溶

(二) 方法

生长曲线测定最常用的方法有比浊法和活菌计数法。

1. 比浊法 将已知浓度的细菌液定量接种到定量的培养液中，在适宜的条件下培养后，测定细菌培养悬液的浊度(A 值)。以细菌悬液的 A 值为纵坐标，以不同培养时间为横坐标，绘制生长曲线。

2. 活菌计数法 在微生物生态学研究中，计算活菌细胞数能更真实的反映细菌生长的动态变化。活菌细胞是指可以分裂和生成后代的细胞，通常采用平板菌落计数法测定(详见本节菌落形成单位的测定)。将已知浓度的细菌液定量接种到定量的培养液中，在适宜的条件下培养后，取定量的菌液接种于琼脂平板表面培养。以菌落增长数目的对数为纵坐标，以不同培养时间为横坐标，绘制生长曲线。

二、菌落形成单位的测定

生态学研究的一个重要内容是定时、定位和定量检测生态系中生物体的数量，特别是定量样本中的活菌细胞含量。目前国际上多采用菌落形成单位(colony forming units，cfu)，而不是使用传统的活菌绝对值计数法来表示样品中的活菌含量，所以平板菌落计数法成为检测样本中活菌含量的一种最常用的微生物学实验技术。目前常用的平板菌落计数法有涂布法、滴注法和螺旋仪接种法，此外倾注法也有报告。

(一) 原理

定时、定位采集样本并用适当的运送方法送到实验室后，将待测样品经分散处理和适当稀释，其中的微生物被分散成单个细胞，取定量的稀释样液接种到平板上，放置 37℃孵育箱(孵育的大气条件及孵育时间根据菌种选择)，经过孵育培养后由每个单细胞生长繁殖而形成肉眼可见的可计数的菌落。计数菌落的数量并根据稀释度计算出定量样品中的微生物活菌含量。

(二) 方法

平板菌落计数方法因其接种方式的不同被分为涂布接种法、滴注接种法、倾注接种法和螺旋仪接种法。四种平板菌落计数法的操作程序基本相同，包括：定时、定位的采集样本、运

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

送、稀释、接种、孵育和计数菌落数量等，不同点主要在稀释和接种两项操作上。关于倾注接种法、滴注接种法和螺旋仪接种法的操作步骤详见本章第二节分离鉴定技术中的相关内容。涂布接种法是细菌活菌计数常用的一种方法（图 3-71）。涂布接种法的菌落分布见图 3-72，滴注接种法的菌落分布见图 3-73、图 3-74 和图 3-75。

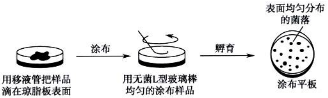


图 3-71　涂布法图示

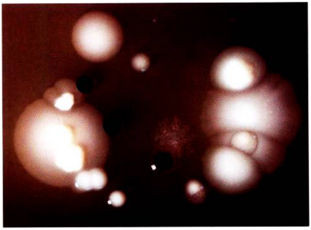


图 3-72　涂布法平板菌落（龈缘菌斑样本）



图 3-73　滴注法平板菌落（菌斑样本）

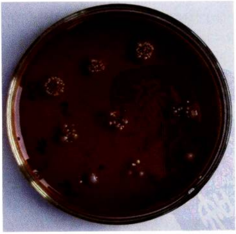


图 3-74　滴注法平板菌落（唾液样本）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

螺旋仪接种法是直接由现代微生物自动接种仪（螺旋接种仪）完成样本液的稀释、接种和涂布。经孵育后的平板菌落在螺旋轨迹上形成，分布散在均匀，可以使用计数板人工计数或自动菌落计数仪计数菌落，详细内容见本章第二节分离鉴定技术中有关内容。

倾注法：取定量的细菌稀释液放入无菌的小瓶中，然后加入已融化并冷却至50℃左右的营养琼脂培养基混合，再倾注于直径为90mm的无菌平板，使其分布均匀。放置适当的条件下孵育后计数琼脂中表层及深层所有的菌落。

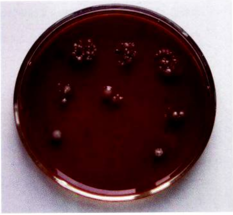


图 3-75 滴注法平板菌落（龈下菌斑样本）

滴注法：取定量的稀释浓度适宜（10^5CFU/ml、10^4CFU/ml、10^3CFU/ml）的样本稀释液滴注，在琼脂培养基表面（每个浓度作三个平行样），经孵育后计数平板表面的菌落数。

三、黏附力及黏附抑制力的测定

微生物黏附是微生物定植和致病的基础，黏附力及黏附抑制力的测定有助于了解细菌的致病作用及防治措施的研究。

（一）黏附力的测定

1. 介质黏附 选择玻片、玻棒、羟基磷灰石（HA），或离体牙作为黏附的介质。

2. 方法 采集介质表面的黏附物用称重法或活菌计数法或液体闪烁计数法或比浊法测量细菌在介质表面的黏附量大小，以推断其黏附力（图 3-76）。通过在培养液中加入人工唾液或胶原溶液，或用唾液、胶原溶液包被介质等措施，可提高黏附力度及结果的可信度。

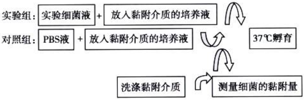


图 3-76 黏附力测定的操作流程

将介质置于定量的培养液中并加入定量的细菌悬液，在适宜的条件下孵育后，用 KCl 缓冲液洗涤黏附介质 3～4 次，以除去附着在介质表面而非黏附的细菌。黏附量用同位素液体闪烁仪计数值，即每分钟闪烁计数（counts per minute，CPM）表示，黏附率（%）=（实验组 CPM－阴性对照 CPM/阳性对照 CPM－阴性对照 CPM）×100%

（二）黏附抑制率测定

黏附抑制率测定主要是了解实验药物或其他制剂对细菌黏附的抑制力。实验的基本方法同上，其结果是通过分析实验组（加入抑制剂）和对照组（不加抑制剂）黏附力的差异（图 3-77）。

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

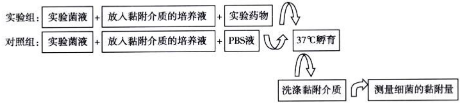


图 3-77　黏附抑制力测定的操作流程

黏附抑制率＝[1-（实验组 CPM- 阴性对照组 CPM）/（阳性对照组 CPM- 阴性对照组 CPM）]×100%

当实验组 CPM 小于阴性对照组 CPM 时，令黏附抑制率为 100%。

四、菌斑生物膜检测技术

在自然界中，绝大多数细菌是附着于有生命或无生命的物体表面，以生物膜（biofilm）的方式生存和生长。生物膜是一种被基质包裹的相互黏附并附着于体表或界面的细菌群体。牙菌斑是口腔微生物在牙面形成的一种典型的生物膜。生物膜中的微生物以共位群的形式生存，相互依存、相互竞争，形成复杂的生态学关系。生物膜检测技术的应用是为了更好的了解细菌生存的自然状态即本来面目，以及相互之间及与宿主的关系、致病机制及抗菌剂的抗菌效果等。

（一）生物膜形成实验

生物膜形成实验是系列生物膜检测技术的基础实验，可检测单一菌种或混合菌种的生物膜形成的结构特点、条件及影响因素等，从而为细菌共位群相互关系、致病机制及防治措施的深入研究奠定基础。生物膜形成试验的前期培养方法与黏附力测定相同，只是在结果检测上不同。通过扫描电镜或激光共聚显微镜观察生物膜形成的结构及其他特性。

目前有一种商品化的生物膜测定专用 96 孔微板：MBEC™-Device（MBEC Biofilm Technology Ltd.，Calgary Alberta，Canada.U.S Patent），见图 3-78。

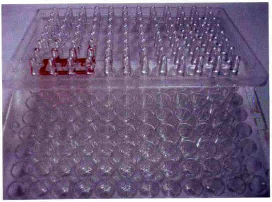


图 3-78　生物膜检测微孔板（MBEC™-Device）

MBEC™-Device 的密封盖板上有 96 个可任意取动的栒钉（黏附介质）与底板的 96 个微孔相对应，不仅可在同一时间内测定 96 个栒钉上形成的生物膜，而且可在需要时取出其中的任一栒钉，进行生物膜的检测分析

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

（二）生物膜的检测分析

通过扫描电镜和激光共聚焦显微镜技术可检测生物膜的形态特点、结构及胞外聚合物等。在扫描电镜下，可观察不同时间生物膜的生长状况（图 3-79、图 3-80 和图 3-81）。

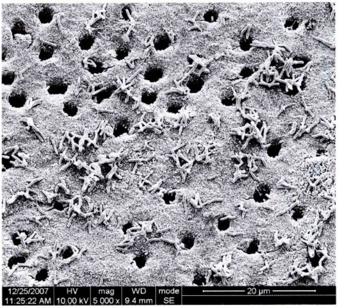


图 3-79　黏性放线菌在牛牙本质上形成的 36h 生物膜（扫描电镜，×5 000）

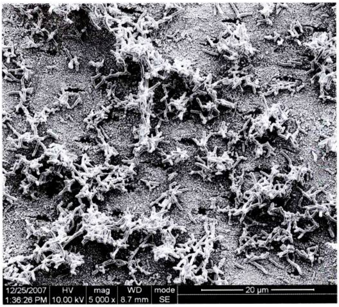


图 3-80　伴放线菌嗜血菌在牛牙本质上形成的 48h 生物膜（扫描电镜，×5 000）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

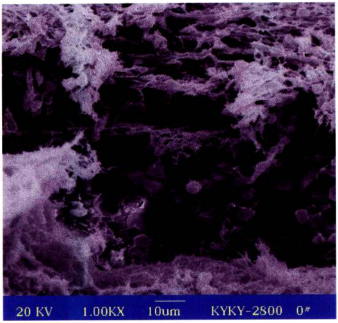


图 3-81　感染根管临床样本的生物膜（扫描电镜，× 10 000）

荧光染色法和激光共聚焦显微镜（CLSM）技术的联合应用是目前研究生物膜结构及胞外多糖的一种常用方法，在镜下可观察到清晰的生物膜结构（图 3-82 和图 3-83）。

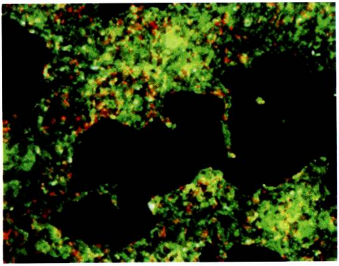


图 3-82　变异链球菌 24h 生物膜结构（激光扫描共聚焦显微镜）

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注

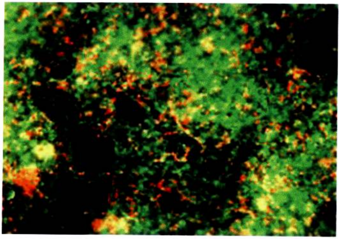


图 3-83　变异链球菌 48h 生物膜结构（激光共聚焦显微镜）
在激光共聚焦显微镜（绿色激光，504～511nm）下观察的生物膜图片，可见生物膜形态呈多层叠加图像，经荧光黄染色的细菌微菌落和完整的菌斑生物膜结构。生物膜的结构呈三维蘑菇状，其间布满水道、孔隙，该结构呈现空间和时间的多样性；暗色背景下有绿色荧光聚焦的团块，呈团块条索状结构分布（绿色）的是生物膜中的微菌落影像，红色荧光显示死亡细菌细胞

公众号里每天更新正畸、修复等临床操作视频
口腔视频，微信公众号里搜索qzkqsp1（茄子口腔视频1首字母）即可关注